

过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒

(用于动物组织、红细胞)

100 管/96 样

一、测定意义:

氢氧自由基(OH•)是化学性质最活泼的活性氧,它几乎与细胞内的每一类有机物如糖、氨基酸、磷脂、核苷酸和有机酸等都能反应,并且有非常高的速度常数,因此它的破坏性极强,但它可以被过氧化氢酶分解,因而测定过氧化氢酶的高低就有其重要意义。

二、测定原理:

红细胞或组织中过氧化氢酶(Catalase)在一定条件下能直接分解其底物过氧化氢(H2O2),使 H2O2 在反应液中的浓度逐渐降低,相应的吸光度也逐渐下降。

三、试剂组成与配制:

试剂一: 30ml 水剂贮备液×1 瓶, 4℃保存 6 个月。

试剂二: 甲粉×1 瓶,乙粉×1 瓶,4℃保存 6 个月。用时各加双蒸水 200ml,完全溶解后混合一起,用双蒸水定容至 500ml,配成应用液,4℃保存 3 个月。

四、底物溶液的配制:

- 1、每次测定前先配制底物溶液,使其吸光度在 0.5~0.55 之间,并将底物溶液预温至 25 ℃备用,具体配法如下:
- ①、取 1 号试剂 $1\sim2ml$ 加 10 倍 2 号试剂,混匀,紫外 240nm 处,双蒸水调零,1cm 光径石英比色 皿测吸光度 (OD) 值,若在 $0.5\sim0.55$ 之间,可预温至 25 \mathbb{C} 进行测试。
- ②、若吸光度大于 0.55,则将比色杯中溶液倒回已配制的底物溶液中,加 2 号试剂进行稀释,所需 2 号试剂量为 X ml 按下公式计算。



本试剂盒仅用于科研实验

X(ml)=(所测得的底物溶液 $OD_{-1} \times \text{所加 2 号试剂量}$

0.55

举例: 取 1 号试剂 2ml 加 2 号试剂 20ml 配制的底物溶液的吸光度为 1.09,则应再加 2 号试剂 Xml 稀释:

$$X(ml) = (\frac{1}{10}.09.55 - 1) \times 20 = 19.64 (ml)$$

③、若测得的吸光度小于 0.5,如只有 0.35,则将比色皿中溶液倒回已配制的底物溶液中,加 1 号试剂提高吸光度,所需量 Xml 按下公式计算:

$$X(ml)=(1-$$
 所测得的底物溶液 $OD_{)\times \text{ mbn } 1}$ 号试剂量 0.55

举例 取 1 号试剂 2ml 加 2 号试剂 20ml 配制的底物溶液的吸光度为 0.35,则应再加 1 号试剂的量为

$$X(ml) = (1 - \frac{0}{0}) \cdot \frac{35}{5} \cdot 5 \times 2 = 0.6 (ml)$$

2、总结:

若底物溶液 OD 值在 0.5~0.55 之间, 预温至 25℃即可测试。

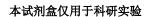
若底物溶液 OD 值大于 0.55 则用 2 号试剂稀释使 OD 降到 0.5~0.55。

若底物溶液 OD 值小于 0.5 则用 1 号试剂提高 OD 使其上升至 0.5~0.55。

五、操作步骤:

1、样本前处理:

①、溶血液的制备:





取老鼠的新鲜血液 50 I 加双蒸水至 2.5ml 混匀配成 1:49 溶血液。

②、1%肝组织匀浆的制备:

按《实验方法学》制备 10%肝组织匀浆,再取部分 10%肝组织匀浆,用生理盐水按 1:9 稀释制备成 1%肝组织匀浆。

注: 如果样本(脑组织、神经组织等)的 CAT 活力太低,可以加大样本浓度或增加取样量。

2、测定过程:

取 1cm 光径石英比色皿,紫外 240nm,双蒸水调零备用。取经过前处理的样本 0.02ml 加入比色皿底部,将已预温至 25℃,OD 在 0.5~0.55 之间的底物溶液 3ml 直接用 5ml 或 10ml 的大移液器快速冲入比色皿中,240nm 处立即测定吸光度,记下 OD1 值,比色皿不要取出,1 分钟时立即再测一次吸光度,记下 OD2 值。(没有大移液器可用滴管或细玻棒快速混匀 1~2 次)

六、注意点:

- 1、为了减少误差,两只石英比色杯要进行校正。
- 2、每次加样前比色杯要用双蒸水冲洗 2~3 次, 扣干备用。
- 3、每次比色前(加样前)比色杯的透光面要用擦镜纸擦干净。
- 4、比色与计时要同步,最好为二个人或者用自动生化分析仪。
- 5、加样品量不可太大,以免产生气泡影响吸光度。
- 6、1:100 的溶血液放置室温下不可超过 2 小时。
- 7、脑组织和神经组织中过氧化氢酶活力非常低。