



GYHWM100

过氧化物酶检测试剂盒 (100T)

说明

过氧化物酶(EC 1.11.1.7)是一种在生物系统中广泛存在的酶,使用过氧化氢氧化各种底物。在细胞中,过氧化物酶能破坏有氧呼吸过程中形成的副产物毒性羟基。它作为一大族酶存在于动物、植物、真菌、细菌中。本公司的过氧化物酶测试方法是利用过氧化氢与电子供体反应形成粉红色产物,其比色强度(570nm)或荧光强度($\lambda_{exc} = 530nm, \lambda_{em} = 590nm$)可直接用于测定酶活性。检测范围:比色法 5- 1000 U/L, 荧光法 1- 30 U/L。

适用性

适用于检测细胞培养物上清,血清,血浆,尿液和其他生物体液中过氧化物酶活性。

试剂盒组成

缓冲液 (pH 7.0): 20 mL

显色剂: 60 μ L

H₂O₂: 100 μ L 3%

终止试剂: 12 mL

校准液: 5 mL (相当于 1000 U/L)

储存: 缓冲液和显色剂在-20°C 下保存,其余试剂在 4°C 下保存。

比色法检测步骤

试剂制备: 测试前将所有试剂放置至室温。用缓冲液将 3%的 H₂O₂ 稀释至 0.6% 并在一小时之内使用。该项测试基于反应动力学,建议用多通道加样器添加工作试剂和终止试剂。

1. 取透明平底的96孔板,分别将200 μ L水和200 μ L校准液放入两孔中。

再分别取10 μ L水(空白对照)和10 μ L样品放入不同两孔。另外,每个检测孔按95 μ L缓冲液、0.5 μ L显色剂、0.5 μ L新稀释的0.6% H₂O₂混合制备反应试剂。在每个孔板中分别加入90 μ L反应试剂,轻敲孔板使其混合。室温下培养10分钟。

2. 在空白对照和样品孔板中分别加入100 μ L终止试剂。轻敲孔板使其混合并读取OD570nm值。

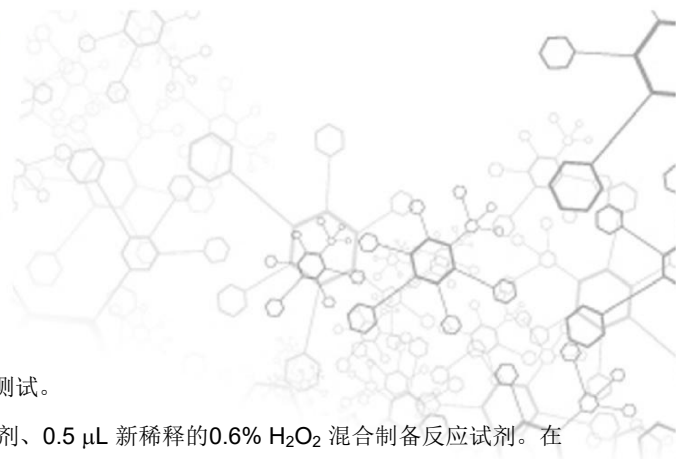
注:若样本的OD值高于校准液OD值,需稀释样本并重复检测,结果需乘稀释系数。

过氧化物酶活性计算如下:

$$\text{过氧化物酶活性} = \frac{\text{OD}_{\text{样品}} - \text{OD}_{\text{空白}}}{\text{OD}_{\text{校准液}} - \text{OD}_{\text{H}_2\text{O}}} \times 1000 \text{ (U/L)}$$

单位定义: 在测试条件下,一单位的酶每分钟可以催化1 μ mole过氧化氢的降解反应。





GYHWM100

荧光法检测步骤

利用黑色平底板进行测试。若需要，可将过氧化物酶标准品(未提供)一同对比测试。

1. 取10 μ L水和10 μ L样品放置于两孔，每个检测孔按95 μ L 缓冲液、0.5 μ L显色剂、0.5 μ L 新稀释的0.6% H₂O₂ 混合制备反应试剂。在每个孔板中分别加入90 μ L反应试剂，轻敲孔板使其混合。室温下培养10分钟。

2. 在空白对照和样品孔板中分别加入100 μ L终止试剂。轻敲孔板使其混合并读取在590nm处的荧光值(λ_{exc} = 530nm)。

预防措施: 本产品仅供研究用，使用过程中应严格遵循实验安全措施。

