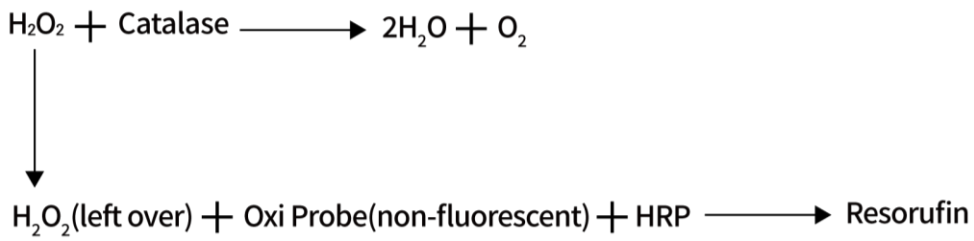
OxiTec™ Catalase Assay Kit

(Colorimetric/ Fluorometric)

BO-CAT-400, 400 assays

제품 원리



BIOMAX 사의 OxiTec™ Catalase Assay Kit는 샘플에 존재하는 Catalase의 활성을 측정하기 위한 제품으로서, Catalase가 과산화수소 (H_2O_2)와 반응하여 물과 산소를 생성하는 과정 중 변환되지 않은 H_2O_2가 Oxi-Probe와 반응하여 흡광도 570 nm 혹은 Ex/Em=535/587 nm 형광으로 Catalase 활성을 측정할 수 있습니다. Catalase와 반응하지 하지 못한 H_2O_2가 Probe와 반응하여 값을 나타내므로 Catalase의 활성은 흡광 혹은 형광과 반비례합니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	Size	Storage
Oxi-Probe (MW=257)	200 µl	-20°C
Horseradish Peroxidase (HRP, 20 U)	1 vial	
Hydrogen Peroxide (H_2O_2 , 3%, 0.88 M)	500 µl	
5X Reaction Buffer (pH 7.5, 0.5 M)	20 ml	
Catalase (100 U)	1 vial	

** 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 -20°C 보관 시 약 6개월간 안정적입니다.*

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ 96-well Microplate (Clear, Flat bottom)
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ 8 or 12 Channel micropipette
- ▶ Micro centrifuge (4°C)
- ▶ Colorimetric microplate reader (450 nm Filter, 37°C)
- ▶ Fluorescence microplate reader (Excitation: 530~560 nm, Emission: 580~590, Filter, 37°C)
- ▶ Sonicator

Copyright©2024 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

실험 전 준비 사항 및 보관 방법

- Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.

Oxi-Probe

실온에서 충분히 녹여 사용합니다. 사용 후 남은 용액은 빛을 차단한 상태에서 -20 °C에 보관합니다.

1X Reaction Buffer

5X Reaction Buffer 4 ml 과 D.W. 16 ml을 혼합하여 준비합니다.

100 U/ml Horseradish Peroxidase (HRP)

Horseradish Peroxidase (HRP, 20 U) vial에 1X Reaction Buffer 200 µl를 혼합하여 준비합니다.
소량 Aliquot하여 -20 °C에 보관합니다.

20 mM Hydrogen Peroxide (H_2O_2)

Hydrogen Peroxide (H_2O_2, 3%, 0.88M) 23 µl와 D.W. 977 µl를 혼합하여 준비합니다. 혼합된 용액은 안정성이 매우 낮아 실험 시 필요량만 섞어 사용하시기 바랍니다.

1000 U/ml Catalase

Catalase (100 U) vial에 D.W. 100 µl를 혼합하여 준비합니다. 소량 Aliquot하여 -20 °C에 보관합니다.

주의 사항

▶ Oxi-Probe 반응에 의해 생성되는 반응물인 Resorufin은 Dithiothreitol (DTT), 2-Mercaptoethanol과 같은 Thiol계 물질에 불안정합니다. 실험 진행 시 Sample에 함유된 DTT와 2-Mercaptoethanol의 최종 농도는 10 µM 보다 높지 않아야 합니다.

▶ 실험진행 시 pH에 유의합니다. (적정 pH=7~8) 반응 최종산물인 Resorufin의 흡광 혹은 형광 측정값은 pH에 의해 변화됩니다. pKa=6.0 미만에서는 Resorufin의 흡광 또는 형광 파장이 달라지며 감도가 현저하게 떨어집니다. 또한 Oxi-Probe는 pH 8.5 이상에서는 불안정하여 정확한 측정이 어렵습니다. 따라서, 실험 진행 시 pH 7~8에서 진행해야 함을 유의하여 주시고, OxiTec™ Catalase Assay Kit에 포함되어 있는 완충액(Reaction Buffer, pH 7.5)을 사용하여 주시기 바랍니다.

Copyright©2024 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

Sample preparation

** 모든 Sample은 Fresh한 상태이어야 하며, -80°C에서 보관 하더라도 1~2 개월 이상 된 Sample을 측정할 시 결과값이 떨어질 수 있습니다.*
** 미지의 Sample 또는 처음 측정하는 Sample의 경우 측정값이 Standard curve 내에 위치하도록 예비실험 진행한 후 사용을 권장합니다.*

Cell culture supernatant

Particles를 제거한 후, 10,000 rpm에서 5 min 간 Centrifuge 합니다. 또한, pH 7~8로 맞추어 사용하셔야 합니다. Serum sample의 경우 Interfere 현상이 있을 수 있으므로 추천하지 않습니다.

Cell lysate or Tissue

1~2 X 10^6 cells/ml 이나, 50 mg/ml 의 조직 샘플을 1X Reaction Buffer 혹은 PBS에 넣은 후 Ice 위에서 Homogenize나 Sonicate를 진행합니다. 그 후 Debris를 제거한 후 사용합니다.

Plasma or Urine

Particles를 제거한 후 10,000 rpm에서 5 min 간 Centrifuge합니다. Supernatant를 Direct로 사용하거나 1X Reaction Buffer 또는 PBS에 희석하여 사용합니다.

Standard preparation

- Standard는 실험 시 마다 측정하시기 바랍니다.
- Catalase standard 희석 시 각 농도별로 충분히 희석하여 필요량을 사용하시는 것이 좋습니다.

1,000 U/ml Catalase 용액 5 µl와 1X Reaction Buffer 995 µl를 섞어 5.0 U/ml Catalase standard 용액을 만들어줍니다. 96-well Microplate에 아래와 같이 Solution을 넣어 Catalase standard를 준비합니다.

Number	5.0 U/ml Catalase Standard (µl)	1X Reaction Buffer (µl)	Total Volume (µl)	Final catalase concentration(mU/ml)
1	-	25	25	0
2	1.25	23.75	25	62.5
3	2.5	22.5	25	125
4	5	20	25	250
5	10	15	25	500

** Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.*

Copyright©2024 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

실험 과정

① 준비된 Sample을 96-well Microplate에 25 µl씩 넣어 줍니다.
** 높은 Background을 갖는 Sample의 경우 Background control mix를 준비합니다.*

② **40 µM H_2O_2 preparation**: 20 mM H_2O_2 용액 10 µl와 1X Reaction Buffer 4.99 ml을 섞어 준비하여 줍니다.

③ 40 µM H_2O_2 용액을 Sample과 Standard가 준비된 각 Well에 25 µl씩 넣어 줍니다.

④ 96-well Microplate를 빛이 차단된 상온에서 30 min간 반응시킵니다.

⑤ Oxi-Probe/HRP Working solution을 아래 표와 같이 만들어 Sample과 Standard well에 50 µl/well씩 넣어줍니다.

Components	Total volume (100 assays)
Oxi-Probe	50 µl
100 U/ml Horseradish-Peroxidase (HRP)	20 µl
1X Reaction Buffer	4930 µl

⑥ 96-well Microplate를 37°C 에서 빛을 차단하여 30 min 간 반응시킵니다.

⑦ Microplate reader를 사용하여 반응 값을 측정합니다.
Fluorescence plate reader를 사용할 경우 – Excitation: 530~560 nm
Emission: 580~590 nm (Optimal Ex/Em = 535/587)
Absorbance plate reader를 사용할 경우 – 570 nm

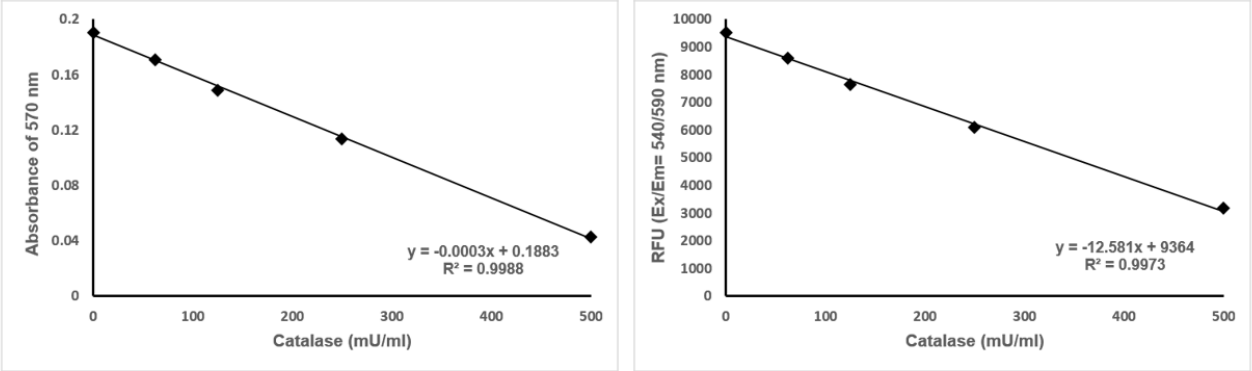
Copyright©2024 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

결과 분석

- Negative control의 측정값에서 각 Well의 측정값을 빼줍니다.

** Negative control = Catalase standard #1 (0 mU/ml Catalase)*

- Horseradish Peroxidase (HRP) 1 Unit의 HRP의 활성은 pH 6.0, 20 °C에서 20 sec 동안 Pyrogallo로부터 Purpurogallin 1.0 mg을 생성하는 양을 말합니다.
- Catalase 1 Unit은 pH 7.0, 25 °C에서 1분 동안 H_2O_2를 1 µmole를 분해하는 양을 말합니다.



Catalase Standard Curve

Copyright©2024 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

Related products

- BO-TAC-200	OxiTec™ Total Antioxidant Capacity Assay Kit (Colorimetric)
- BO-TBR-200	OxiTec™ TBARS Assay Kit (Colorimetric)
- BO-GLU-200	OxiTec™ Glutathione(GSH/GSSG/Total) Assay Kit (Colorimetric)
- BO-SOD-250/500	OxiTec™ SOD Assay Kit (Colorimetric)
- BO-PER-500	OxiTec™ Hydrogen Peroxide/peroxidase Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)
- BO-DPH-200/500	OxiTec™ DPPH Antioxidant Assay Kit (Colorimetric)

**** 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.***

Homepage : www.biomax.com
Shopping mall : www.biomaxmall.com
E-mail : info@scgbiomax.com
Tel : 02-3296-3158 / Fax : 02-973-2858
(주) 바이오맥스 : 경기 구리시 갈매순환로166번길 46, 금강펜테리움 IX타워 CORE-C, 7층

Copyright©2024 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved

Note

Copyright©2024 BIOMAX Co, Ltd. All right reserved