

产品说明书 26 版

基本信息

产品编号:	PS2156
产品名称:	过氧化氢酶(CAT)活性检测试剂盒 微量法

产品简介:

CAT(EC 1.11.1.6)广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中,是最主要的 H₂O₂ 清除酶,在活性氧清除系统中具有重要作用。

H₂O₂ 在 240nm 下有特征吸收峰, CAT 能够分解 H₂O₂, 使反应溶液 240nm 下的吸光度随反应时间而下降, 根据吸光度的变化率可计算出 CAT 活性。

组分:

试剂名称	规格(100T/96S)	保存条件
提取液	液体 100mL×1 瓶	2-8℃
试剂一	液体 30mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	液体 1.5mL×1 瓶	2-8℃

自备材料: 紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔(UV 板)、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一: 粗酶液提取:
1: 细菌、细胞或组织样品的制备 收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液,超声波破碎细菌或细胞(功率 20%,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);8000g 4℃离心 10min,取上清,置冰上待测。称取约 0.1g 组织,加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min,取上清,置冰上待测。
2: 血清(浆)样品:直接检测。
二: 测定步骤
1: 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 240nm,蒸馏水调零。
2: CAT 检测工作液的配制: 用时在试剂二中加入 25mL 试剂一,充分混匀,作为工作液。
3: 测定前将 CAT 检测工作液在 37℃(哺乳动物)或 25℃(其它物种)水浴 10min 以上。
4: 在微量石英比色皿或 96 孔板中加入 10 μL 样本和 190 μL 工作液,立即混匀并计时,记录 240nm 下初始吸光值 A1 和 1min 后的吸光值 A2。计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。
三: CAT 活性计算
a: 用微量石英比色皿测定的计算公式如下
1、血清(浆)CAT 活力的计算: 单位的定义: 每毫升血清(浆)每分钟催化 1nmol H ₂ O ₂ 降解定义为一个酶活力单位。 $CAT(U/mL) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 459 \times \Delta A$





2、组织、细菌或细胞中 CAT 活力计算：

①按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化 1nmol H2O2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 459 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

②按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟催化 1nmol H2O2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 459 \times \Delta A \div W$$

③按细菌或细胞数量计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化 1nmol H2O2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/10}^4\text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.917 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：H2O2 摩尔消光系数， 4.36×10^4 L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，1 min；W：样本鲜重，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细胞或细菌总数，500 万； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

b:用 96 孔板测定的计算公式如下

1、血清（浆）CAT 活力的计算：

单位的定义：每毫升血清（浆）在反应体系中每分钟催化 1nmol H2O2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 764.5 \times \Delta A$$

2、组织、细菌或细胞中 CAT 活力计算：

①按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化 1nmol H2O2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 764.5 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

②按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化 1nmol H2O2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 764.5 \times \Delta A \div W$$

③按细菌或细胞数量计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟催化 1nmol H2O2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/10}^4\text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 1.529 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：H2O2 摩尔消光系数， 4.36×10^4 L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.6cm；V 样：加入样本体积，0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，1 min；W：样本鲜重，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细胞或细菌总数，500 万； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

储存：低温运输，2-8℃，6 个月。

