过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（紫外吸收法）
（本试剂盒仅供科研使用）

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0101	过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（紫外吸收法）	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 60mL ×1 瓶	4℃
试剂一	液体 60mL ×1 瓶	4℃
稀释液	液体 100μL ×3 瓶	4℃

一、产品说明

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。

二、自备材料

紫外分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品准备

1、组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 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、细胞/细菌：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

3、血浆/血清：直接检测。

四、操作步骤

正式测定前，必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 240nm，蒸馏水调零。

2、CAT 检测工作液的配置：用时在每瓶试剂二（100μL）中加入 20mL 试剂一，充分混匀，作为工作液；用不完的试剂 4℃保存一周。

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、取 1mLCAT 检测工作液于 1mL 石英比色皿中，再加入 35μL 样本，混匀 5s；室温下立即测定 240nm 下的初始吸光值 A1 和 1min 后的吸光值 A2。计算ΔA=A1-A2。

五、酶活的计算

1、按照组织蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化 1nmoL H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

CAT(U/mg prot)=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷（V 样×Cpr）÷T =678×ΔA÷Cpr。

2、按照样本鲜重计算

单位的定义：每 g 组织每分钟催化 1nmoL H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

CAT(U/g 鲜重)=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷（W×V 样÷V 样总）÷T =678×ΔA÷W。

3、按照细菌/细胞密度计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化 1nmoL H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

CAT(U/10^4 ceLL) = [ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷（500×V 样÷V 样总）÷T=1.356×ΔA。

4、按照血清/血浆体积计算

单位的定义：每毫升血清（浆）每分钟催化 1nmoL H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

CAT(U/mL)= [ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷V 样÷T =678×ΔA 。

V 反总：反应体系总体积，1.035×10^{-3}L；ε: H2O2 摩尔吸光系数，4.36×10^4L/moL/cm；

d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.035mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；

T：反应时间，1min。W，样本质量，g；Cpr：上清液蛋白浓度，mg/mL；500：细胞或细菌总数，500 万。

六、注意事项

1、 如吸光值出现负值，需检查反应过程是否产生大量气泡，气泡多说明酶活性太高，气泡影响产生了负值，可以将样本用提取液稀释一定倍数后再检测。

2、 如果稀释样本后或者反应体系没有产生气泡、但仍然出现较小负值，说明该样本酶活过低，无法被检测到。