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
YFX0102	过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（紫外吸收法）	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 110mL ×1 瓶	4℃
底物母液	液体 3mL ×1 瓶	4℃
稀释液	液体 30mL ×1 瓶	4℃
工作液的配制：使用前将底物母液用稀释液按照 1:9 的比例稀释（即：1mL 底物母液加入 9mL 稀释液），充分混匀后使用。		

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

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96 孔板（UV 板）、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（若样品浑浊，可 8000g 4℃离心 10min，取上清）。

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、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 240nm，蒸馏水调零。

2、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。

3、准备 96 孔 UV 板一块（非普通酶标板，普通酶标板只能透过可见光，不能透过紫外光，检测波长小于 340nm 务必使用 UV 板）。

4、在或 96 孔 UV 板中加入 10μL 样本和 190μL 工作液，混匀，记录 240nm 下初始吸光值 A1 和 1min 后的吸光值 A2。计算ΔA = A1-A2。

五、酶活的计算

1、按照样本蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化 1μmoL 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）×10^6]÷(V 样×Cpr) ÷T×F = 764.5×ΔA÷Cpr×F。

2、按照样本鲜重计算

单位的定义：每 g 组织每分钟催化 1μmoL 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）×10^6]÷(V 样÷V 样总×W)÷T×F = 764.5×ΔA÷W×F。

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 1μmoL 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）×10^6]÷（V 样÷V 样总×500）÷T×F =1.529×ΔA×F。

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 1μmoL H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

CAT(U/mL)= [ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^6]÷V 样÷T×F =764.5×ΔA×F 。

V 反总：反应体系总体积，2×10^{-4} L；ε：H_2O_2 摩尔消光系数，4.36 L / moL /cm；d：96 孔 UV 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，1mL；T：反应时间，1min；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细胞或细菌总数，500 万； F：样本稀释倍数。

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。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。