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 100mL ×1 瓶	4℃
试剂一	液体 30mL ×1 瓶	4℃
试剂二	液体 125μL ×1 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/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/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、分光光度计/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、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）。

5、微量石英比色皿或 96 孔板中加入 10μL 样本和 190μL 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ΔA = A1-A2。

五、酶活的计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式如下：

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 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]÷(Cpr×V 样) ÷T =764.5×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]÷（V 样÷V 样总×W）÷T=764.5×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]÷（V 样÷V 样总×500）÷T=1.529×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=764.5×ΔA 。

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，0.01mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，1min；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， 1moL=10^9nmoL

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下：

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 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]÷(Cpr×V 样) ÷T=459×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]÷（V 样÷V 样总×W）÷T=459×ΔA÷W。

5、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]÷（V 样÷V 样总×500）÷T =0.917×ΔA。

6、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=459×ΔA 。

V 反总：反应体系总体积，2×10^{-4} L；ε：H2O2 摩尔消光系数，4.36×104L/ mol /cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.01mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；

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；109：单位换算系数， 1 moL=10^9nmoL。

六、注意事项

1、 出现负值怎么办？ 首先检查吸光值是否超过 3，如果超过 3 很可能是没有用 UV 板，请换用 UV 板。如果未超过 3，仍然出现负值则检查反应过程是否产生气泡，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 10 倍后再检测。如果稀释样本或反应体系没有产生 气泡仍然出现较小的负值，说明该样本测不到该酶活。