

**过氧化氢酶 (CAT) 活性检测试剂盒 (微量法)**  
(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 (微量法)	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℃
工作液	液体 24mL × 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 清除酶, 在活性氧清除系统中具有重要作用

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在 240nm 下有特征吸收峰, CAT 能够分解 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 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**

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、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<sup>4</sup> 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、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、在微量石英比色皿或 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 A<sub>1</sub> 和 1min 后的吸光值 A<sub>2</sub>。计算  $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

**五、酶活的计算**

**A. 用 96 孔板测定的计算公式如下:**

#### 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 918 \times \Delta A \div \text{Cpr}.$$

#### 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 918 \times \Delta A \div W.$$

#### 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ ceLL}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.836 \times \Delta A.$$

#### 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 918 \times \Delta A.$$

V 反总: 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4}$  L;  $\epsilon$ : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 摩尔消光系数,  $4.36 \times 10^4$  L / mol / cm;

d: 96 孔板光径, 0.5cm; 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: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; 500: 细胞或细菌总数, 500 万。

### B. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下:

#### 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。

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

#### 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。

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

#### 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。

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

#### 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 459 \times \Delta A.$$

V 反总: 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4}$  L;  $\epsilon$ : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 摩尔消光系数,  $4.36 \times 10^4$  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: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; 500: 细胞或细菌总数, 500 万

## 六、注意事项

- 1、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。
- 2、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。
- 3、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。