

## 过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒说明书-可见显色

货号：RX859W48      规格：48 样      方法：酶标仪法

### 一、注意事项

1. 实验开始前请先通读一遍说明书。
2. 正式检测前选取 2~3 个样本上清液进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。
4. 因本实验加完试剂一反应迅速，当样品较多时建议分批进行检测，反应结束后快速加入试剂二和试剂三。
5. 预实验若发现酶活性过高（A 测定 $<0.2$ ），可用提取液适当稀释样品后测定，并在计算公式中乘以相应稀释倍数。
6. 若 A 对照 $<A$  测定，一方面可能是酶活性过低，可将反应时间 10 min 延长到 30 min，另一方面可能样本中杂质干扰严重，可将样本稀释 5 倍左右后测定，并在计算公式中代入实际反应时间和乘以相应稀释倍数。

### 二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	55 mL $\times$ 1	4 $^{\circ}$ C	
试剂一	3.5 mL $\times$ 1	4 $^{\circ}$ C避光	
试剂二	12 mL $\times$ 1	4 $^{\circ}$ C	过饱和试剂，有结晶析出为正常现象，可 37 $^{\circ}$ C加热搅拌溶解
试剂三	28 mL $\times$ 1	4 $^{\circ}$ C	

### 三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅/恒温培养箱。

### 四、样品制备

1. 植物、动物组织：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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，然后，10000 g，4 $^{\circ}$ C，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量（ $10^4$  个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 200 w，

超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次)；然后 10000g，4°C，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 血清或培养液：直接测定。

### 五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 405 nm 处。

2. 在 1.5 mL 离心管中依次加入：

试剂名称	测定管	试剂名称	对照管
样本 (μL)	50	试剂一 (μL)	30
试剂一 (μL)	30	试剂二 (μL)	100
充分混匀，25°C准确反应 10 min。		试剂三 (μL)	265
试剂二 (μL)	100	充分混匀	
试剂三 (μL)	265	样本 (μL)	50
混匀后吸取 200 μL 于 96 孔板立即测定 A405，记 A 测定、A 对照。 ΔA=A 对照-A 测定，每个测定管需设置一个对照管。			

### 六、计算：

#### 1. 标准方程

标准条件下测得回归方程为  $y=0.01x+0.0025$ ， $R^2=0.9999$ ， $x$  为标准品浓度 (μmol/mL)， $y$  为吸光值 A。

#### 2、组织、细菌或细胞中 CAT 活力计算：

(1) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟催化 1 μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。

过氧化氢酶 (CAT) 活性 (μmol/min/g 鲜重) =  $(\Delta A - 0.0025) \div 0.01 \times V1 \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 60 \times (\Delta A - 0.0025) \div W \div T$

(2) 按样本蛋白浓度计算 (需另测蛋白浓度)：

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化 1 μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。

过氧化氢酶 (CAT) 活性 (μmol/min/mg prot) =  $(\Delta A - 0.0025) \div 0.01 \times V1 \div (V \text{ 样} \times Cpr) \div T = 60 \times (\Delta A - 0.0025) \div Cpr \div T$

---

3.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 1  $\mu\text{mol}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{过氧化氢酶 (CAT) 活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}) = (\Delta A - 0.0025) \div 0.01 \times V_1 \div V_{\text{样}} \div T \\ = 60 \times (\Delta A - 0.0025) \div T$$

V<sub>1</sub>：加入试剂一的体积，0.03 mL；V<sub>样</sub>：加入样本体积，0.05 mL；V<sub>样总</sub>：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，min；W：样本质量，g；C<sub>pr</sub>：样本蛋白质浓度，mg/mL

## 七、产品简介

过氧化氢酶的活性变化是衡量生物抗逆能力的重要生理指标之一，当生物遭遇胁迫时，细胞内活性氧的产生会加剧。此时，过氧化氢酶会通过清除作用使活性氧保持一定的浓度范围，这种保护机制体现在生物的各种抗逆反应中。