

过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒说明书-可见显色

货号：RX860W96 规格：96 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	110 mL×1	4℃	
试剂一	6.5 mL×1	4℃避光	
试剂二	22 mL×1	4℃	过饱和试剂，有结晶析出为正常现象，可 37℃加热搅拌溶解
试剂三	56 mL×1	4℃	

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℃，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 H₂O₂ 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 H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

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

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 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

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

V₁：加入试剂一的体积，0.03 mL；V_样：加入样本体积，0.05 mL；V_{样总}：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，min；W：样本质量，g；C_{pr}：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。