过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒说明书-紫外显色

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 个样本上清进行预检测。

3.本试剂盒仅用于科研。

4.准备 96 孔 UV 板一块（非普通酶标板，检测波长小于 340 nm 需使用 UV 板）。

5.若预实验时 OD 值大于 2，请用提取液（不可使用蒸馏水）将上清稀释直至 OD 值小于 2；若反应过程中产生大量气泡，会影响 OD 值，可用提取液将上清进行稀释 10 倍，计算时乘以相应稀释倍数。

6.若还是出现负值时，可延长反应时间，在计算时除以相应反应时间。

7.若已稀释样本、延长反应时间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。

8.因本实验反应迅速，建议将样品进行分批检测，每批样品为 3~6 个。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	55 mL×1	4℃	
试剂一	12 mL×1	4℃	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔 UV 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. 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，8000 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 8000 g，4℃，离心 10 min，置于冰

上，上清为待测样本。

3. 液体样品直接检测。

五、测定步骤：

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 240 nm 处。

2. 测定前将试剂一在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 10 min 以上。

3.在 96 孔 UV 板中加入下列样本及试剂：

	测定管
样本（μL）	10
试剂一（μL）	190
立即混匀并计时，记录 240 nm 下 5 s 吸光度值 A1，快速轻微拍动 UV 板后，记录 1min 5s 时 A2。计算ΔA＝A1-A2	

六、计算：

1、液体 CAT 活力的计算:

单位的定义：每毫升液体每分钟催化 1 nmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

CAT（nmol/min/mL）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷V 样÷T=765×ΔA

2、组织、细菌或细胞中 CAT 活力计算：

（1）按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化 1 nmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

CAT（nmol/min/mg prot）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷（V 样×Cpr）÷T =765×ΔA÷Cpr

（2）按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟催化 1 nmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

CAT（nmol/min/g 鲜重）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷（W×V 样÷V 样总）÷T=765×ΔA÷W

（3）按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化 1 nmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

CAT（nmol/min/10^4 cell）=A×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷（500×V 样÷V 样总）÷T=1.53×ΔA

V 反总：反应体系总体积，2×10^{-4} L；ε：H_2O_2 摩尔消光系数，4.36×10^4 L / mol /cm；

d：96 孔板光径，0.6 cm；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。

七、产品简介

CAT(EC 1.11.1.6)广泛存在于生物和培养细胞中，是最主要的 H_2O_2 清除酶，在活性氧清除系统中具有重要作用。