过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒说明书-可见显色

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℃	
标准品	1 mL×1	4℃	1 mmol/mL 标准溶液，若重新做标曲则用到该试剂，标准系列溶液按照与待测样本相同的操作步骤同步测定。

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℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 液体样本：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℃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：

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。

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_2O_2 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）=（ΔA-0.0025）÷0.01×V1÷（W× V 样÷V 样总）÷T =60×（ΔA-0.0025）÷W÷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_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

过氧化氢酶（CAT）活性（μmol/min/mg prot）=（ΔA-0.0025）÷0.01×V1÷（V 样×Cpr）÷T =60×（ΔA-0.0025）÷W÷T

3. 按细胞/细菌数量计算：

单位的定义：每 10^4 个细胞/细菌每分钟催化 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

过氧化氢酶（CAT）活性（μmol/min/10^4 cell）=（ΔA-0.0025）÷0.01÷（N×V 样÷V 样总）÷T =60×（ΔA-0.0025）÷N÷T

4. 按液体样本体积计算:

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

过氧化氢酶（CAT）活性（μmol /min/mL）=（ΔA-0.0025）÷0.01×V1÷V 样÷T =60×（ΔA-0.0025）÷W÷T

V 1：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；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；N：细胞/细菌数量，万个。

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。