

# 过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1107

产品规格：50管/48样

## 产品简介：

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。

## 产品内容：

提取液：液体60mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体60mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：液体100μL×1瓶，4℃保存。

## 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

## 操作步骤：

### 一、粗酶液提取：

#### 1、细菌、细胞或组织样品的制备

细菌或培养细胞：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（功率20%或200w，超声3秒，间隔10秒。重复30次）；8000g 4℃离心10分钟，取上清，置冰上待测。

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10分钟，取上清，置冰上待测。

#### 2、血清（浆）样品：直接检测。

### 二、CAT测定步骤：

1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至240nm，蒸馏水调零。

2、CAT检测工作液的配制：用时在试剂二中加入20mL试剂一，充分混匀，作为工作液；用不完的试剂4℃保存一周。

3、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。

4、取1mLCAT检测工作液于1mL石英比色皿中，再加入35μL样本，混匀5s；室温下立即测定240nm下的初始吸光值A1和1min后的吸光值A2。计算 $\Delta A=A1-A2$

### 三、CAT 活性计算：

#### 1、血清（浆）CAT活力的计算：

单位的定义：每毫升血清（浆）在反应体系中每分钟催化1nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 678 \times \Delta A$$

#### 2、组织、细菌或细胞中CAT活力计算：



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

(1) 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化1nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 678 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算:

单位的定义: 每g组织在反应体系中每分钟催化1nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 678 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细菌或细胞数量计算:

单位的定义: 每1万个细菌或细胞在反应体系中每分钟催化1nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.356 \times \Delta A$$

V反总: 反应体系总体积, 1.035×10<sup>-3</sup>L; ε: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>摩尔吸光系数, 4.36×10<sup>4</sup>L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V样: 加入样本体积, 0.035ml; V样总: 加入提取液体积, 1ml; T: 反应时间, 1min。W, 样本质量, g; Cpr: 上清液蛋白浓度, mg/ml; 500: 细胞或细菌总数, 500万。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com