

## 过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（微量法）

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：BA1108

产品规格：100管/96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100mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体30mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：液体125μL×1瓶，4℃保存。

### 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔（UV板）、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

收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每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%，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

称取约0.1g组织，加入1mL提取液进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

##### 2、血清（浆）样品：直接检测。

#### 二、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25mL试剂一，充分混匀，作为工作液。

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、在微量石英比色皿或96孔板中加入10μL样本和190μL工作液，立即混匀并计时，记录240nm下初始吸光值A1和1min后的吸光值A2。计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

#### 三、CAT 活性计算：

##### a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

##### 1、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。

$$\text{CAT(U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 459 \times \Delta A$$

##### 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1nmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>降解定义为一个酶活力单位。



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

$$\text{CAT(U/mg prot)}=[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 459 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算:

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

$$\text{CAT(U/g 鲜重)}=[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 459 \times \Delta A \div W$$

(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。

$$\text{CAT(U}/10^4 \text{ cell)}=[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.917 \times \Delta A$$

V反总: 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4}$  L;  $\epsilon$ : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>摩尔消光系数,  $4.36 \times 10^4$  L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; 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: 样本鲜重, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; 500: 细胞或细菌总数, 500万;  $10^9$ : 单位换算系数,  $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

#### b.用96孔板测定的计算公式如下

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。

$$\text{CAT(U/mL)}=[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 764.5 \times \Delta A$$

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。

$$\text{CAT(U/mg prot)}=[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 764.5 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(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。

$$\text{CAT(U/g 鲜重)}=[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 764.5 \times \Delta A \div W$$

(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。

$$\text{CAT(U}/10^4 \text{ cell)}=[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 1.529 \times \Delta A$$

V反总: 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4}$  L;  $\epsilon$ : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>摩尔消光系数,  $4.36 \times 10^4$  L/mol/cm; d: 96孔板光径, 0.6cm; 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: 样本鲜重, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; 500: 细胞或细菌总数, 500万;  $10^9$ : 单位换算系数,  $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com