

过氧化氢酶(CAT)检测试剂盒说明书
分光光度法
AM0221

保存条件

按照产品内容保存要求保存。

产品信息

产品名称	产品货号	规格
过氧化氢酶(CAT)检测试剂盒 分光光度法	AM0221	50 管/48 样

产品简介
测定意义:

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 H₂O₂ 清除酶,在活性氧清除系统中具有重要作用。

测定原理:

H₂O₂ 在 240nm 下有特征吸收峰, CAT 能够分解 H₂O₂, 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

组成	含量	保存
提取液	60mLx1 瓶	4°C
试剂一	60mLx1 瓶	4°C
试剂二	100μLx3 瓶	4°C

使用方法

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

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。

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(10⁴ 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); 8000g4°C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°C离心 10 分钟, 取上清, 置冰上待测。

2、血清(浆) 样品:直接检测。

测定步骤:

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 240nm 处, 蒸馏水调零。
- 2、CAT 检测工作液的配置: 用时在每瓶试剂二 (100 μ L) 中加入 20ml 试剂一, 充分混匀, 作为工作液:用不完的试剂 4°C保存一周。
- 3、测定前将 CAT 检测工作液 37°C(哺乳动物)或 25°C(其他物种)水浴 10min。
- 4、取 1mLCAT 检测工作液于 1mL 石英比色皿中, 再加入 35 μ L 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 $\Delta A = A1 - A2$

CAT 活性计算公式:

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 H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位

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

2、组织、细菌或细胞中 CAT 活力计算:

(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 H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT (U/mgprot)} = (\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\text{exd}) \times 10^9) \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 678 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(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 H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

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

3、按细菌或细胞中 CAT 活力计算:

单位的定义:每 1 万个细菌或细胞在每分钟反应体系中每分钟催化 1nmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

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

V_{反总}:反应体系总体积, 1.035x10⁻³L; E: NADH 摩尔吸光系数, 4.36x10⁴L/mol/cm;

d: 比色光径, 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。