

组织及血液过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHA2-C48	组织及血液过氧化氢酶（CAT）试剂盒	48T	常量法

产品说明：

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。

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。

试剂组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60 mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体60 mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体320 μL×1 瓶	4℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂二：液体置于试剂瓶内EP管中，使用前需先离心。
- 2、检测工作液的配制：取100μL试剂二加入20mL试剂一，充分混匀（约20T），作为工作液，现用现配；或者根据比例配制。

操作步骤：

一、样本处理

1、细菌、细胞或组织样本的制备

a、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。

b、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）样本：直接检测。

二、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、测定前将CAT检测工作液37℃（哺乳动物）或25℃（其他物种）水浴10min。

3、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 $\Delta A = A1 - A2$ 。

三、CAT 活性计算

1、血清（浆）CAT 活力的计算：

单位的定义：每 mL 血清（浆）在反应体系中每分钟催化 1 μ mol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。 $CAT (U/mL) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{\text{样}} \div T = 678 \times \Delta A$

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 1 μ mol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。 $CAT (U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 678 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

(2) 按样本质量计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化 1 μ mol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。 $CAT (U/g \text{ 质量}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 678 \times \Delta A \div W$

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 1 μ mol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。 $CAT (U/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.356 \times \Delta A$

V 反总：反应体系总体积，1.035 $\times 10^{-3}$ L； ϵ ：H₂O₂ 摩尔吸光系数，43.6 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；10⁶：单位换算系数，1mol=10⁶ μ mol。

注意事项：

如果反应液有大量气泡产生，将样本用蒸馏水稀释后再进行测定。