

# 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-M96	组织及血液过氧化氢酶（CAT）试剂盒	96T	微量法

## 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。

## 试剂组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 110 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：取试剂二25 μL 中加入5mL 试剂一，充分混匀，作为工作液（约26T），现用现配；也可根据样本量按比例配制（提供1个15 mL空瓶）。

## 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200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

b、组织：按照组织质量（g）：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）样本：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、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。
- 3、在微量石英比色皿或96 孔板中加入 10 $\mu$ L 样本和 190 $\mu$ L 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mL 血清（浆）每分钟催化 1 $\mu$ mol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。  $CAT(U/mL)=[\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{样} \div T=459 \times \Delta A$

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

$CAT(U/mg \text{ prot})=[\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (Cpr \times V_{样}) \div T=459 \times \Delta A \div Cpr$

##### (2) 按样本质量计算：

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

$CAT(U/g \text{ 质量})=[\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T=459 \times \Delta A \div W$

##### (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 1 $\mu$ mol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。  $CAT(U/10^4 \text{ cell})=[\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{样} \div V_{样总} \times 500) \div T=0.917 \times \Delta A$

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，43.6 L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.01mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，1min；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细胞或细菌总数，500 万；10<sup>6</sup>：单位换算系数，1mol=10<sup>6</sup> $\mu$ mol。

### 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mL 血清（浆）在反应体系中每分钟催化 1 $\mu$ mol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。  $CAT(U/mL)=[\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{样} \div T=764.5 \times \Delta A$

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

$CAT(U/mg \text{ prot})=[\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (Cpr \times V_{样}) \div T=764.5 \times \Delta A \div Cpr$

##### (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  $1\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  降解定义为一个酶活力单位。  $\text{CAT}(\text{U/g 质量}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 764.5 \times \Delta A \div W$

(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  $1\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  降解定义为一个酶活力单位。  $\text{CAT}(\text{U}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 1.529 \times \Delta A$

V 反总：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4} \text{L}$ ； $\epsilon$ ： $\text{H}_2\text{O}_2$  摩尔消光系数， $43.6 \text{ L/mol/cm}$ ；d：96 孔板光径， $0.6 \text{ cm}$ ；V 样：加入样本体积， $0.01 \text{ mL}$ ；V 样总：加入提取液体积， $1 \text{ mL}$ ；T：反应时间， $1 \text{ min}$ ；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度， $\text{mg/mL}$ ；500：细胞或细菌总数，500 万； $10^6$ ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^6 \mu\text{mol}$ 。

**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。