

过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（微量法）

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。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

名称	规格	保存条件
提取液	液体110mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体110μL×1瓶	2-8℃

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：取试剂二25μL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15mL空瓶）。

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/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤(仅供参考)：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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 μ mol H₂O₂降解定义为一个酶活力单位。

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

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1 μ mol H₂O₂降解定义为一个酶活力单位。

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

(2) 按样本质量计算：

单位的定义：每g组织每分钟催化1 μ mol H₂O₂降解定义为一个酶活力单位。

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

(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 μ mol H₂O₂降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.917 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积，2 $\times 10^{-4}$ L； ϵ ：H₂O₂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；10⁶：单位换算系数，1mol=10⁶ μ 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 μ mol H₂O₂降解定义为一个酶活力单位。

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

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1 μ mol H₂O₂降解定义为一个酶活力单位。

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

(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 μ mol H₂O₂降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/g 质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 764.5 \times \Delta A \div W$$

(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 μ mol H₂O₂降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/10}^4\text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 1.529 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积，2 $\times 10^{-4}$ L； ϵ ：H₂O₂摩尔消光系数，43.6 L/mol/cm；d：96孔板光径，0.6cm；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；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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com