

过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒说明书-可见显色

规格：96 样

方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 实验开始前请先通读一遍说明书。
2. 正式检测前选取 2~3 个样本上清液进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。
4. 因本实验加完试剂一反应迅速，当样品较多时建议分批进行检测，反应结束后快速加入试剂二和试剂三。
5. 预实验若发现酶活性过高（A 测定 <0.2 ），可用提取液适当稀释样品后测定，并在计算公式中乘以相应稀释倍数。
6. 若 A 对照 $<$ A 测定，一方面可能是酶活性过低，可将反应时间 10 min 延长到 30 min，另一方面可能样本中杂质干扰严重，可将样本稀释 5 倍左右后测定，并在计算公式中代入实际反应时间和乘以相应稀释倍数。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	110 mL $\times$ 1	4 $^{\circ}$ C	
试剂一	6.5 mL $\times$ 1	4 $^{\circ}$ C避光	
试剂二	22 mL $\times$ 1	4 $^{\circ}$ C	过饱和试剂，有结晶析出为正常现象，可 37 $^{\circ}$ C加热搅拌溶解
试剂三	56 mL $\times$ 1	4 $^{\circ}$ C	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅/恒温培养箱。

四、样品制备

1. 植物、动物组织：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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，然后，10000 g，4 $^{\circ}$ C，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

Nanjing BYabscience technology Co.,Ltd

网址：www.byabscience.cn

官方热线：025-5229-8998

监督电话：

15950492658

2. 细菌、真菌：按照细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 200 w，

超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；然后 10000g，4℃，离心 10min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 血清或培养液：直接测定。

五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 405 nm 处。

2. 在 1.5 mL 离心管中依次加入：

试剂名称	测定管	试剂名称	对照管
样本（ μL ）	50	试剂一（ μL ）	30
试剂一（ μL ）	30	试剂二（ μL ）	100
充分混匀，25℃准确反应 10 min。		试剂三（ μL ）	265
试剂二（ μL ）	100	充分混匀	
试剂三（ μL ）	265	样本（ μL ）	50
混匀后吸取 200 μL 于 96 孔板立即测定 A405，记 A 测定、A 对照。 $\Delta A = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ ，每个测定管需设置一个对照管。			

六、计算：

1. 标准方程

标准条件下测得回归方程为 $y = 0.01x + 0.0025$ ， $R^2 = 0.9999$ ，x 为标准品浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ），y 为吸光值 A。

2、组织、细菌或细胞中 CAT 活力计算：

（1）按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟催化 1 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 降解定义为一个酶活力单位。

过氧化氢酶（CAT）活性（ $\mu\text{mol/min/g}$ 鲜重）= $(\Delta A - 0.0025) \div 0.01 \times V_1 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 60 \times (\Delta A - 0.0025) \div W \div T$

（2）按样本蛋白浓度计算（需另测蛋白浓度）：

Nanjing BYabscience technology Co., Ltd

网址：www.byabscience.cn

官方热线：025-5229-8998

监督电话：

15950492658

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

过氧化氢酶 (CAT) 活性 ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}$) = $(\Delta A - 0.0025) \div 0.01 \times V_1 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 60 \times (\Delta A - 0.0025) \div W \div T$

3.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 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

过氧化氢酶 (CAT) 活性 ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$) = $(\Delta A - 0.0025) \div 0.01 \times V_1 \div V_{\text{样}} \div T = 60 \times (\Delta A - 0.0025) \div W \div T$

V_1 ：加入试剂一的体积，0.03 mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.05 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL； T ：反应时间，min； W ：样本质量，g； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL

七、产品简介

过氧化氢酶的活性变化是衡量生物抗逆能力的重要生理指标之一，当生物遭遇胁迫时，细胞内活性氧的产生会加剧。此时，过氧化氢酶会通过清除作用使活性氧保持一定的浓度范围，这种保护机制体现在生物的各种抗逆反应中。

Nanjing BYabscience technology Co.,Ltd

网址：www.byabscience.cn

官方热线：025-5229-8998

监督电话：

15950492658