

使用说明书

Instruction Manual

过氧化氢酶(CAT)活性检测试剂盒（微量法）

Catalase Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

过氧化氢酶 (Catalase, 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。

检测原理

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。

产品组成及储存条件

100T/96S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0044M-ES	100mL×1 瓶	4°C保存。
CB0044M-A	30mL×1 瓶	4°C保存。
CB0044M-B	125μL×1 瓶	4°C保存。

CAT 检测工作液的配置：用时在 CB0044M-B 中加入 25mL CB0044M-A，充分混匀，作为工作液；用不完的试剂 4°C 保存一周。

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板)、水浴锅、可调式移液枪、研钵、冰和双蒸水。

二、粗酶液提取：

- 细菌或培养细胞：先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)：CB0044M-ES (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL CB0044M-ES，超声波破碎细菌或细胞 (冰浴，功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次)；然后 8000g 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 组织：按照组织质量 (g)：CB0044M-ES 体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0044M-ES)，进行冰浴匀浆。8000g 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 血清 (浆) 样品：直接检测。

三、测定步骤：

- 紫外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。
- CAT 检测工作液的配制：见产品组成及储存条件列表。
- 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。
- 在微量石英比色皿或 96 孔板 (UV 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 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

四、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：每毫升血清（浆）每分钟催化 1nmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

计算公式：CAT (U/mL) = [ΔA×V 反总÷(ε×d)×10⁹]÷V 样÷T = 459×ΔA

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 1nmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

计算公式：CAT (U/mg prot) = [ΔA×V 反总÷(ε×d)×10⁹]÷(Cpr×V 样)÷T = 459×ΔA÷Cpr

(2) 按样本鲜重计算：

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

计算公式：CAT (U/g 鲜重) = [ΔA×V 反总÷(ε×d)×10⁹]÷(V 样÷V 样总×W)÷T = 459×ΔA÷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 1nmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

计算公式：CAT(U/10⁴ cell) = [ΔA×V 反总÷(ε×d)×10⁹]÷(V 样÷V 样总×500)÷T = 0.917×ΔA

注： V 反总：反应体系总体积，2×10⁻⁴ L; ε：H₂O₂ 摩尔消光系数，4.36×10⁴ L/mol/cm; d：比色皿光径，1cm; V 样：

加入样本体积，0.01 mL; V 样总：加入 CB0044M-ES 体积，1 mL; T：反应时间，1 min; W：样本鲜重，g; Cpr：

样本蛋白质浓度，mg/mL; 500：细胞或细菌总数，500 万; 10⁹：单位换算系数，1 mol=10⁹ nmol。

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。

计算公式：CAT (U/mL) = [ΔA×V 反总÷(ε×d)×10⁹]÷V 样÷T = 918×ΔA

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。

计算公式：CAT (U/mg prot) = [ΔA×V 反总÷(ε×d)×10⁹]÷(Cpr×V 样)÷T = 918×ΔA÷Cpr

(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。

计算公式：CAT (U/g 鲜重) = [ΔA×V 反总÷(ε×d)×10⁹]÷(V 样÷V 样总×W)÷T = 918×ΔA÷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 1nmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

计算公式：CAT (U/10⁴ cell) = [ΔA×V 反总÷(ε×d)×10⁹]÷(V 样÷V 样总×500)÷T = 1.834×ΔA

注： V 反总：反应体系总体积，2×10⁻⁴ L; ε：H₂O₂ 摩尔消光系数，4.36×10⁴ L/mol/cm; d：96 孔板光径，0.5cm;

V 样：加入样本体积，0.01 mL; V 样总：加入 CB0044M-ES 体积，1 mL; T：反应时间，1 min; W：样本鲜重，g;

Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL; 500：细胞或细菌总数，500 万; 10⁹：单位换算系数，1 mol=10⁹ nmol。

注意事项

1. 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

