

过氧化氢酶 (CAT) 活性检测试剂盒 (分光光度计法) (本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

| 产品编号 | 产品名称 | 产品规格 |
|---------|---------------------|-----------|
| YFX0101 | 过氧化氢酶 (CAT) 活性检测试剂盒 | 50 管/48 样 |

产品内容

| 名称 | 规格 | 储存条件 |
|-----|---------------|------|
| 提取液 | 液体 60mL ×1 瓶 | 4°C |
| 试剂一 | 液体 60mL ×1 瓶 | 4°C |
| 试剂二 | 液体 100μL ×3 瓶 | 4°C |

一、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。

二、自备材料

紫外分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

三、样本准备:

- 1、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°C离心 10 分钟,取上清,置冰上待测。
- 2、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 20%或200w,超声 3 秒,间隔 10 秒。重复 30 次);8000g 4°C离心 10 分钟,取上清,置冰上待测。
- 3、血清(浆)样品:直接检测。

四、操作步骤

正式测定前,必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 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、CAT 检测工作液的配置:用时在每瓶试剂二(100μL)中加入 20ml 试剂一,充分混匀,作为工作液;用不完的试剂 4°C保存一周。
- 3、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。

取1mLCAT 检测工作液于 1mL 石英比色皿中,再加入 35μL 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 $\Delta A=A1-A2$ 。

五、活性的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每 min 催化 1nmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活单位。

$$\text{CAT (U/ mg prot)} = (\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9) \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T \\ = 678 \times \Delta A \div \text{Cpr}。$$

2、按照样本鲜重计算:

单位定义: 每 g 组织在反应体系中每 min 催化 1nmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活单位。

$$\text{CAT (U/g 鲜重)} = (\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 678 \times \Delta A \div W。$$

3、按照液体体积计算:

单位定义: 每 ml 血清 (浆) 在反应体系中每 min 催化 1nmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活单位。

$$\text{CAT (U/mL)} = (\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9) \div V_{\text{样}} \div T = 678 \times \Delta A。$$

4、按细菌或细胞中 CAT 活力计算

单位定义: 每 1 万个细菌或细胞在每分钟反应体系中每分钟催化 1nmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT (U/10}^4 \text{ cell)} = (\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.356 \times \Delta A。$$

V_{反总}: 反应体系总体积, 1.035×10⁻³L; ε: H₂O₂ 摩尔吸光系数, 4.36×10⁴L/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。