

M5 过氧化氢酶 (CAT) 测试盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 过氧化氢酶 (CAT) 测试盒	48T	MF495-01

【储存条件】

4°C保存

【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 H_2O_2 清除酶,在活性氧清除系统中具有重要作用。 H_2O_2 在 240nm 下有特征吸收峰,CAT 能够分解 H_2O_2 ,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。

【产品组份】

提取液: 60mL

试剂 A: 60mL

试剂 B: 320 μ L

溶液的配制:

- 1.试剂 B: 液体置于棕色试剂瓶内 EP 管中,使用前需先离心。
- 2.检测工作液的配制: 取 50ul 试剂 B 加入 13ml 试剂 A,充分混匀 (约 13T),作为工作液,现用现配: 或者根据比例配制。

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。

【实验前准备】

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/匀浆器、冰和蒸馏水

【操作步骤】

一、样本处理:

1、细菌、细胞或组织样品的制备

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 (10^4 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。

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、血清 (浆) 样品: 直接检测。

二、CAT 测定操作:

1、分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 240nm 处,蒸馏水调零。

2、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。

3、取 1mL CAT 检测工作液于 1mL 石英比色皿中,再加入 35 μ L 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 $\Delta A=A_1-A_2$

三、CAT 活性计算：

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。

$$\text{CAT (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{\text{样}} \div T = 678 \times \Delta A$$

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 1nmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT (U/ mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 678 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(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。

$$\text{CAT (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 678 \times \Delta A \div W$$

3、按细菌或细胞中 CAT 活力计算：

单位的定义：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。

$$\text{CAT (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.356 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积，1.035×10⁻³L；

ε：H₂O₂ 摩尔吸光系数，43.6L/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。

10⁶：单位换算系数，1mol=10⁶μmol。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。

北京市昌平区回龙观龙域北街 10 号院 1 号楼四层 422-1 室（创集合大楼）

热线电话：(86) 010-597242930