

过氧化氢酶（CAT）测定试剂盒

（用于动物组织、红细胞）

100 管/96 样

一、测定意义：

氢氧自由基（OH·）是化学性质最活泼的活性氧，它几乎与细胞内的每一类有机物如糖、氨基酸、磷脂、核苷酸和有机酸等都能反应，并且有非常高的速度常数，因此它的破坏性极强，但它可以被过氧化氢酶分解，因而测定过氧化氢酶的高低就有其重要意义。

二、测定原理：

红细胞或组织中过氧化氢酶（Catalase）在一定条件下能直接分解其底物过氧化氢（H₂O₂），使 H₂O₂ 在反应液中的浓度逐渐降低，相应的吸光度也逐渐下降。

三、试剂组成与配制：

试剂一：30ml 水剂贮备液×1 瓶，4℃保存 6 个月。

试剂二：甲粉×1 瓶，乙粉×1 瓶，4℃保存 6 个月。用时各加双蒸水 200ml，完全溶解后混合一起，用双蒸水定容至 500ml，配成应用液，4℃保存 3 个月。

四、底物溶液的配制：

1、每次测定前先配制底物溶液，使其吸光度在 0.5~0.55 之间，并将底物溶液预温至 25℃备用，具体配法如下：

- ①、取 1 号试剂 1~2ml 加 10 倍 2 号试剂，混匀，紫外 240nm 处，双蒸水调零，1cm 光径石英比色皿测吸光度（OD）值，若在 0.5~0.55 之间，可预温至 25℃进行测试。
- ②、若吸光度大于 0.55，则将比色杯中溶液倒回已配制的底物溶液中，加 2 号试剂进行稀释，所需 2 号试剂量为 X ml 按下公式计算。

$$X(ml) = \frac{\text{所测得的底物溶液 } OD - 1}{0.55} \times \text{所加 2 号试剂量}$$

举例：取 1 号试剂 2ml 加 2 号试剂 20ml 配制的底物溶液的吸光度为 1.09，则应再加 2 号试剂 Xml 稀释：

$$X(ml) = \frac{1.09 - 1}{0.55} \times 20 = 19.64 (ml)$$

③、若测得的吸光度小于 0.5，如只有 0.35，则将比色皿中溶液倒回已配制的底物溶液中，加 1 号试剂提高吸光度，所需量 Xml 按下公式计算：

$$X(ml) = \frac{1 - \text{所测得的底物溶液 } OD}{0.55} \times \text{所加 1 号试剂量}$$

举例：取 1 号试剂 2ml 加 2 号试剂 20ml 配制的底物溶液的吸光度为 0.35，则应再加 1 号试剂的量为

$$X(ml) = \frac{1 - 0.35}{0.55} \times 2 = 0.6 (ml)$$

2、总结：

若底物溶液 OD 值在 0.5~0.55 之间，预温至 25℃即可测试。

若底物溶液 OD 值大于 0.55 则用 2 号试剂稀释使 OD 降到 0.5~0.55。

若底物溶液 OD 值小于 0.5 则用 1 号试剂提高 OD 使其上升至 0.5~0.55。

五、操作步骤：

1、样本前处理：

①、溶血液的制备：

取老鼠的新鲜血液 50 l 加双蒸水至 2.5ml 混匀配成 1:49 溶血液。

②、1%肝组织匀浆的制备:

按《实验方法学》制备 10%肝组织匀浆,再取部分 10%肝组织匀浆,用生理盐水按 1:9 稀释制备成 1%肝组织匀浆。

注:如果样本(脑组织、神经组织等)的 CAT 活力太低,可以加大样本浓度或增加取样量。

2、测定过程:

取 1cm 光径石英比色皿,紫外 240nm,双蒸水调零备用。取经过前处理的样本 0.02ml 加入比色皿底部,将已预温至 25℃,OD 在 0.5~0.55 之间的底物溶液 3ml 直接用 5ml 或 10ml 的大移液器快速冲入比色皿中,240nm 处立即测定吸光度,记下 OD1 值,比色皿不要取出,1 分钟时立即再测一次吸光度,记下 OD2 值。(没有大移液器可用滴管或细玻棒快速混匀 1~2 次)

六、注意点:

- 1、为了减少误差,两只石英比色杯要进行校正。
- 2、每次加样前比色杯要用双蒸水冲洗 2~3 次,扣干备用。
- 3、每次比色前(加样前)比色杯的透光面要用擦镜纸擦干净。
- 4、比色与计时要同步,最好为二个人或者用自动生化分析仪。
- 5、加样品量不可太大,以免产生气泡影响吸光度。
- 6、1:100 的溶血液放置室温下不可超过 2 小时。
- 7、脑组织和神经组织中过氧化氢酶活力非常低。