

过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0205

规格：100T/96S、200T/192S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	100T 规格	200T 规格	保存条件
提取液	液体 110 mL×1 瓶	液体 110 mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	液体 45 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 110 μL×1 瓶	液体 210 μL×1 瓶	2-8℃保存

100T、200T 溶液的配制：

- 1、试剂二：液体置于试剂瓶内 EP 管中，使用前需先离心（掌上离心机甩离即可）。
- 2、检测工作液的配制（提供 1 个 15 mL 空瓶）：
 - A. 使用 96 孔 UV 板：取试剂二 25 μL 中加入 5mL 试剂一，充分混匀，作为工作液（约 26T），现用现配；也可根据样本量按比例配制。
 - B. 使用微量石英比色皿：取试剂二 25 μL 中加入 6.5mL 试剂一，充分混匀，作为工作液（约 34T），现用现配；也可根据样本量按比例配制。

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。

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。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 1、细菌/细胞：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每 500 万细菌/细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌/细胞（功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 2、组织：按照组织质量（g）：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 2、血清（浆）样本：直接检测。若有浑浊可离心后取上清进行测定。

注：该试剂盒的样本匀浆上清也可用于 BC0090/BC0095(过氧化酶)、BC0020/BC0025(丙二醛)、BC0170/BC0175(超氧化物歧化酶)、BC5160/BC5165(超氧化物歧化酶)、BC0680/BC0685(乳酸脱氢酶)的测定。





二、测定步骤

- 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、测定前将 CAT 检测工作液在 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）水浴 10min 以上。
- 3、在微量石英比色皿或 96 孔 UV 板中加入 10 μ L 样本和 190 μ L 工作液，立即混匀并计时，记录 240nm 下 5s 初始吸光值 A1 和 1min 5s 后的吸光值 A2。计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

三、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 mL 血清（浆）每分钟催化 1 μ mol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{\text{样}} \div T \times F = 459 \times \Delta A \times F$$

- 2、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 1 μ mol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T \times F = 459 \times \Delta A \div Cpr \times F$$

- 3、按样本质量计算：

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

$$\text{CAT(U/g 质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times F = 459 \times \Delta A \div W \times F$$

- 4、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 1 μ mol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/10}^4\text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T \times F = 0.917 \times \Delta A \times F$$

V 反总：反应体系总体积，2 $\times 10^{-4}$ L； ϵ ：H₂O₂ 摩尔消光系数，43.6 L/mol/cm；d：微量石英比色皿光径，1cm；
V 样：加入样本体积，0.01mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，1min；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细胞或细菌总数，500 万；10⁶：单位换算系数，1mol=10⁶ μ mol。

b. 用 96 孔 UV 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 mL 血清（浆）在反应体系中每分钟催化 1 μ mol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{\text{样}} \div T \times F = 764.5 \times \Delta A \times F$$

- 2、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 1 μ mol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T \times F = 764.5 \times \Delta A \div Cpr \times F$$

- 3、按样本质量计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化 1 μ mol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/g 质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times F = 764.5 \times \Delta A \div W \times F$$

- 4、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 1 μ mol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/10}^4\text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T \times F = 1.529 \times \Delta A \times F$$

V 反总：反应体系总体积，2 $\times 10^{-4}$ L； ϵ ：H₂O₂ 摩尔消光系数，43.6 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.6cm；
V 样：加入样本体积，0.01mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，1min；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；N：细菌或细胞总数，以万计；10⁶：单位换算系数，1mol=10⁶ μ mol；F：样本稀释倍数。



注意事项:

如果反应液有大量气泡产生, 将样本用蒸馏水稀释后再进行测定。

相关发表文献:

- [1] Xu J, Chu T, Yu T, Li N, Wang C, Li C, Zhang Y, Meng H, Nie G. Design of Diselenide-Bridged Hyaluronic Acid Nano-antioxidant for Efficient ROS Scavenging to Relieve Colitis. *ACS Nano*. 2022 Aug 23;16(8):13037-13048. doi: 10.1021/acsnano.2c05558. Epub 2022 Jul 21. PMID: 35861614.
- [2] Hu XH, Shen S, Wu JL, Liu J, Wang H, He JX, Yao ZL, Bai YF, Zhang X, Zhu Y, Li GB, Zhao JH, You X, Xu J, Ji YP, Li DQ, Pu M, Zhao ZX, Zhou SX, Zhang JW, Huang YY, Li Y, Ning Y, Lu Y, Huang F, Wang WM, Fan J. A natural allele of proteasome maturation factor improves rice resistance to multiple pathogens. *Nat Plants*. 2023 Feb;9(2):228-237. doi: 10.1038/s41477-022-01327-3. Epub 2023 Jan 16. PMID: 36646829.
- [3] Xu X, Li G, Zhang D, Zhu H, Liu GH, Zhang Z. Gut Microbiota is Associated with Aging-Related Processes of a Small Mammal Species under High-Density Crowding Stress. *Adv Sci (Weinh)*. 2023 May;10(14): e2205346. doi: 10.1002/advs.202205346. Epub 2023 Mar 25. PMID: 36965140; PMCID: PMC10190659.
- [4] Liu YS, Tao Y, Yang XZ, Liu YN, Shen RF, Zhu XF. Gibberellic acid alleviates cadmium toxicity in rice by regulating NO accumulation and cell wall fixation capacity of cadmium. *J Hazard Mater*. 2022 Oct 5; 439:129597. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.129597. Epub 2022 Jul 16. PMID: 35868086.
- [5] Zhang S, Wang H, Liu M, Yu H, Peng J, Cao X, Wang C, Liu R, Kamali M, Qu J. Press perturbations of microplastics and antibiotics on freshwater micro-ecosystem: Case study for the ecological restoration of submerged plants. *Water Res*. 2022 Nov 1; 226:119248. doi: 10.1016/j.watres.2022.119248. Epub 2022 Oct 14. PMID: 36323200.

参考文献:

- [1] Catalase in vitro. [J]. *Methods Enzymol*, 105:121-126.
- [2] Johansson L H, Borg L A H. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples[J]. *Analytical biochemistry*, 1988, 174(1): 331-336.

相关系列产品:

- BC0190/BC0195 多酚氧化酶 (PPO) 活性检测试剂盒
- BC0210/BC0215 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性检测试剂盒
- BC0170/BC0175 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性检测试剂盒
- BC0090/BC0095 过氧化物酶 (POD) 活性检测试剂盒

