

过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

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：BC0200

规格：50T/48S

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	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 300 μL×1 瓶	2-8℃保存

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。
- 2、检测工作液的配制：取 50μL 试剂二加入 13mL 试剂一，充分混匀（约 13T），作为工作液，现用现配；或者根据比例配制。

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 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。

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、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（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1、细菌、细胞或组织样本的制备

a、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 200w，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10 分钟，取上清，置冰上待测。

b、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℃离心 10 分钟，取上清，置冰上待测。

2、血清（浆）样本：直接检测。

注：该试剂盒的样本匀浆上清也可用于 BC0090/BC0095（过氧化物酶）、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 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 $\Delta A = A1 - A2$ 。

三、CAT 活性计算

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 1μmol 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 1μmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

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

(2) 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 1μmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

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

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 1μmol 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，43.6 L/mol/cm；d：1mL 石英比色皿光径，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；C_{pr}：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。

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] Saikumar S, Mani R, Ganesan M, Dhinakaranamy I, Palanisami T, Gopal D. Trophic transfer and their impact of microplastics on estuarine food chain model. J Hazard Mater. 2024 Feb 15; 464:132927. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.132927. Epub 2023 Nov 4. PMID: 37984149.

[2] Wang L, Lu H, Zhang X, He Y, Zhang J, Guo X, Fu H, Ye G, Shu Q. Disruption of serotonin biosynthesis increases resistance to striped stem borer without changing innate defense response in rice. J Pineal Res. 2023 Sep;75(2): e12895. doi: 10.1111/jpi.12895. Epub 2023 Jul 10. PMID: 37392131.

[3] Liu Z, Chen B, Xiang S, Hu S. Self-immolative nanocapsules precisely regulate depressive neuronal microenvironment for synergistic antidepressant therapy. J Nanobiotechnology. 2023 Aug 17;21(1):274. doi: 10.1186/s12951-023-02008-9. PMID: 37592281; PMCID: PMC10433581.

[4] Xiao S, Song W, Xing J, Su A, Zhao Y, Li C, Shi Z, Li Z, Wang S, Zhang R, Pei Y, Chen H, Zhao J. ORF355 confers enhanced salinity stress adaptability to S-type cytoplasmic male sterility maize by modulating the mitochondrial metabolic homeostasis. J Integr Plant Biol. 2023 Mar;65(3):656-673. doi: 10.1111/jipb.13382. Epub 2023 Jan 3. PMID: 36223073.

[5] Liang L, Zhang G, Dai X, Li W. The removal of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes by sulfidated nanoscale zero-valent iron activating periodate: Efficacy and mechanism. Environ Res. 2023 Nov 1;236(Pt 2):116829. doi: 10.1016/j.envres.2023.116829. Epub 2023 Aug 5. PMID: 37544470.



参考文献:

- [1] Catalase in vitro.[J]. Methods Enzymol, 105:121-126.
- [2] Johansson L II, Borg L A II. 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

