

过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号：AC10106

规格：100T/96S

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，有疑问请及时联系吉至工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	液体 110 μL×1 瓶	4℃ 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：

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（提供一个 15mL 空瓶）。

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（提供一个 15mL 空瓶）。

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。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。

产品仅供科研！



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；按照每 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 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

b、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。

二、测定步骤**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、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℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 10min 以上。

3、在微量石英比色皿或 96 孔板中加入 10μL 样本和 190μL 工作液，立即混匀并计时，记录 240nm 下初始吸光值 A1 和 1min 后的吸光值 A2。计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

三、CAT 活性计算**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 1μmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

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

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。

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

（2）按样本质量计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟催化 $1\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 降解定义为一个酶活力单位。

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

(3) 按细菌或细胞数量计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化 $1\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/104 cell)}=[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.917 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}\text{L}$ ； ϵ ： H_2O_2 摩尔消光系数， 43.6 L/mol/cm ；d：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； 10^6 ：单位换算系数， $1\text{mol}=10^6\mu\text{mol}$ 。

b.用 96 孔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 $1\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 降解定义为一个酶活力单位。

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

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 $1\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 降解定义为一个酶活力单位。

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

(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 $1\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 降解定义为一个酶活力单位。

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

(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 $1\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/104 cell)}=[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 1.529 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}\text{L}$ ； ϵ ： H_2O_2 摩尔消光系数， 43.6 L/mol/cm ；d：96 孔板光径， 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 ；500：细胞或细菌总数，500 万； 10^6 ：单位换算系数， $1\text{mol}=10^6\mu\text{mol}$ 。



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] Zhang Z, Liu H, Sun C, et al. A C2H2 zinc-finger protein OsZFP213 interacts with OsMAPK3 to enhance salt tolerance in rice[J]. Journal of plant physiology, 2018, 229: 100-110.

[2] Yin Y J, Chen C J, Guo S W, et al. The fight against Panax notoginseng root-rot disease using zingiberaceae essential oils as potential weapons[J]. Frontiers in plant science, 2018, 9: 1346.

[3] Yang Y, Li J, Wei C, et al. Amelioration of nonalcoholic fatty liver disease by swertiamarin in fructose-fed mice[J]. Phytomedicine, 2019, 59: 152782.

[4] Chen G, Jia Z, Wang L, et al. Effect of acute exposure of saxitoxin on development of zebrafish embryos (Daniorerio)[J]. Environmental Research, 2020: 109432.

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.

