



过氧化氢酶 (CAT) 活性检测试剂盒 (紫外吸收法)

Catalase (CAT) Activity Assay Kit (Ultraviolet Absorption Method)



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（紫外吸收法）

Catalase (CAT) Activity Assay Kit (Ultraviolet Absorption Method)

一、产品描述

过氧化氢酶（CAT）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是生物演化过程中建立起来的生物防御系统关键酶，其主要功能是催化生物体内的 H_2O_2 分解，使机体免受自由基损伤，在活性氧清除系统中具有重要作用。

H_2O_2 在 240 nm 处具有特征吸收峰，过氧化氢酶能够分解 H_2O_2 ，使反应溶液在 240 nm 处吸光值随反应时间而下降，根据吸光值变化速率即可表征过氧化氢酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂名称	储存条件
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 60 μ L×1 支	4°C避光保存

CAT 检测工作液的配制（现用现配）：使用前吸取 15 μ L 试剂二加入 10 mL 试剂一（或按比例配制）充分混匀，即为 CAT 检测工作液，配制后 4°C可保存一周。

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，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 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

- ①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 240 nm。
- ②试验前将 CAT 检测工作液 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）预热 10 min。
- ③在 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	10
CAT 检测工作液	190

吸光值测定：充分混匀并立即开始计时，立即测定 240 nm 处 5 s 时吸光值 A1 和 65 s 时吸光值 A2，计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

3.过氧化氢酶（CAT）活性计算

- ①按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{917.4 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

- ②按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{917.4 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ③按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{917.4 \times \Delta A}{W}$$

- ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 917.4 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ： H_2O_2 摩尔消光系数，43.6 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；细菌或细胞数量：以万计；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，60 s=1 min； 10^6 ：单位换算系数，1 mol= 10^6 μmol 。

四、注意事项

①反应过程气泡过多表明酶活性过高，结果可能为负值，建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定；若稀释样本或反应体系没有产生气泡仍然出现较小的负值，说明该样本测不到 CAT 活性；

②若吸光值超过 3，请检查使用的是否为 96 孔 UV 板；

③若 A1 大于 1.5 或 ΔA 大于 0.2，建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定，控制 ΔA 小于 0.2 能够确保反应过程曲线呈良好线性，以提高检测准确性和灵敏度；若 ΔA 小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间（5-10 min）后再进行测定，计算时相应修改；

④准确在 5 s 和 65 s 处完成吸光值测定，以确保结果准确性和重复性；若同时测定多个样本时，应使用多道移液器且分次进行检测，以确保组间反应时间一致；

⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

