



## 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 60 mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 120 $\mu$ 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 30  $\mu$ L 试剂二加入 20 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:** 紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、研钵/匀浆器、可调式移液器、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紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 240 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将 CAT 检测工作液 37°C（哺乳动物）或 25°C（其他物种）预热 10 min。
- ③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )
粗酶液	35
CAT 检测工作液	1000

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

$$\text{CAT (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{678 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

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

$$\text{CAT (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{678 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ③按组织样本质量计算

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

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

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

$$\text{CAT (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 678 \times \Delta A$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.035 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， $1.035 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ： $\text{H}_2\text{O}_2$  摩尔消光系数，43.6 L/mol/cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1 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， $1 \text{ mol} = 10^6 \mu\text{mol}$ 。

#### 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，请检查比色皿是否为石英比色皿；

③若 A1 大于 1.5 或  $\Delta A$  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  $\Delta A$  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  $\Delta A$  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；

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.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

