（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K031-M

产品规格：48T(16 samples)/ 96T(40 samples)

检测仪器：酶标仪(400-410 nm)

Elabscience®过氧化氢酶(CAT) 比色法测试盒

Catalase (CAT) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、培养细胞、培养液及动植物组织样本中的过氧化氢酶活力。

检测原理

过氧化氢酶催化H_2O_2分解为氧和水，钼酸铵能够迅速中止CAT分解H_2O_2的反应，而剩余的H_2O_2与钼酸铵作用产生一种淡黄色的络合物，在波长405 nm处测定其生成量，可计算出CAT的活力。

本试剂盒在检测组织和细胞样本时，需要测定总蛋白浓度，推荐使用BCA法（货号：E-BC-K318-M）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	12 mL × 1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	澄清剂 (Clarificant)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	2-8°C 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	9.6 mol/L H_2O_2 标准品 (9.6 mol/L H_2O_2 Standard)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	2-8°C 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪（400-410 nm），涡旋混匀仪、磁力搅拌器、微量移液器（1000 μL，200 μL，100 μL，10 μL）、烧杯（25 mL）、37℃恒温箱或水浴锅

耗材：枪头（1000 μL，200 μL，10 μL ）、EP 管（1.5 mL）。

试剂：双蒸水或去离子水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

试剂准备

① 试剂三工作液配制：

将试剂三用24 mL双蒸水溶解。（如有少量不溶粉末，直接取上清，不影响结果，2-8℃保存3个月）。

② 试剂一和试剂二使用前须37℃温育10 min。

③ 试剂四，须37℃温育至透明，方可使用。

④ 1 mmol/mL标准品的配制：

按试剂五：双蒸水为5: 43的体积比配制，按需配制，现配现用。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μmol/mL)	**0**	**10**	**20**	**30**	**40**	**50**	**60**	**100**
1 mmol/mL H_2O_2 (μL)	0	10	20	30	40	50	60	100
双蒸水(μL)	1000	990	980	970	960	950	940	900

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：直接测定。

组织样本：组织处理的匀浆介质为 PBS（0.01 M，pH 7.4）。匀浆后，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

细胞样本：取约 10^6 个细胞加入 300 μL PBS（0.01 M，pH 7.4）匀浆。匀浆后，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1.12-150 U/mL，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	小鼠血清	不稀释
293T 细胞上清	不稀释	10%绿萝匀浆	1-2
10%大鼠心匀浆	50-100	10%大鼠肺匀浆	50-100
10%大鼠肝匀浆	100-200	10%大鼠肾匀浆	50-100
10%大鼠脾匀浆	50-100	10%大鼠脑匀浆	20-50

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

实验关键点

① 由于过氧化氢不稳定，标准品需现用现配。

② 检测过程中，加入缓冲液和样本后需要温育 5 min。

③ 基质液加入后的反应时间须准确。

④ 取反应液到酶标板孔时，防止引入气泡。

操作步骤

标曲部分

① 标准管：取 20 μL 不同浓度的标准品，分别加入至 1.5 mL 的 EP 管中。

② 向步骤①各管中依次加入 200 μL 试剂一，20 μL 双蒸水，200 μL 试剂三工作液及 20 μL 的试剂四，混匀。

③ 静置 10 min，分别取各管中的 200 μL 反应液，加入到对应的酶标板孔。

④ 酶标仪 405 nm 测定 OD 值。

样本部分

① 对照管：取 200 μL 试剂一，加入至 1.5 mL EP 管中；
测定管：取 20 μL 待测样本、200 μL 试剂一，加入至 1.5 mL EP 管中。

② 将步骤①中的各管 37℃温育 5 min。

③ 取出各管，取 20 μL 试剂二加入至对照管和测定管中，混匀，37℃准确反应 1 min。

④ 向步骤③中的测定管依次加入 200 μL 试剂三工作液和 20 μL 的试剂四，对照管中依次加入 200 μL 试剂三工作液、20 μL 的试剂四和 20 μL 待测样本，混匀。

⑤ 静置 10 min，分别取各管中的 200 μL 反应液，加入到对应的酶标板孔。

⑥ 酶标仪 405 nm 测定 OD 值。

操作表

标准曲线

	标准管
不同浓度的标准品(μL)	20
试剂一（μL）	200
双蒸水（μL）	20
试剂三工作液（μL）	200
试剂四（μL）	20
混匀，静置 10 min，分别取 200 μL 反应液，加入到对应的酶标板孔，酶标仪 405 nm 测定 OD 值。	

样本测定

	对照管	测定管
样本（μL）		20
试剂一（μL）	200	200
37℃温育 5 min		
试剂二（μL）	20	20
37℃准确反应 1 min		
试剂三工作液（μL）	200	200
试剂四(μL)	20	20
样本（μL）	20	
混匀，静置 10 min，分别取 200 μL 反应液，加入到对应的酶标板孔，酶标仪 405 nm 测定 OD 值。		

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

标准品拟合曲线：y = ax + b

血清（浆）CAT 活力的计算：

定义：37℃条件下，每毫升血清或血浆每分钟分解 1 μmoL H_2O_2 的量为一个活力单位。

$$\underset{(U/mL)}{CAT\ 活力} = \frac{\Delta A}{a} \times \frac{0.02^*}{1^* \times V} \times f$$

组织（细胞）中 CAT 活力的计算：

定义：37℃条件下，每毫克组织蛋白每分钟分解 1 μmoL H_2O_2 的量为一个活力单位。

$$\underset{(U/mgprot)}{CAT\ 活力} = \frac{\Delta A}{a} \times \frac{0.02^*}{1^* \times V} \times f \div C_{pr}$$

注解:

y：标准品测定 OD 值-空白 OD 值

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

*：0.02 为标准品的上样量 0.02 mL；1 为反应时间 1 min

ΔA：对照孔 OD 值-测定孔 OD 值

V: 样本加入体积（mL）

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr}：样本的蛋白浓度（mgprot/mL）

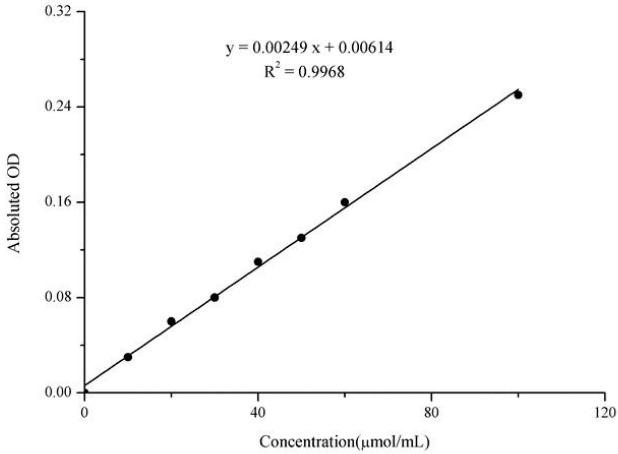
附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	1.12 -150 U/mL	**平均批间差**	7.7 %
灵敏度	1.12 U/mL	**平均批内差**	3.9 %
平均回收率	100 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 标准曲线(如下图):



附录2 实例分析

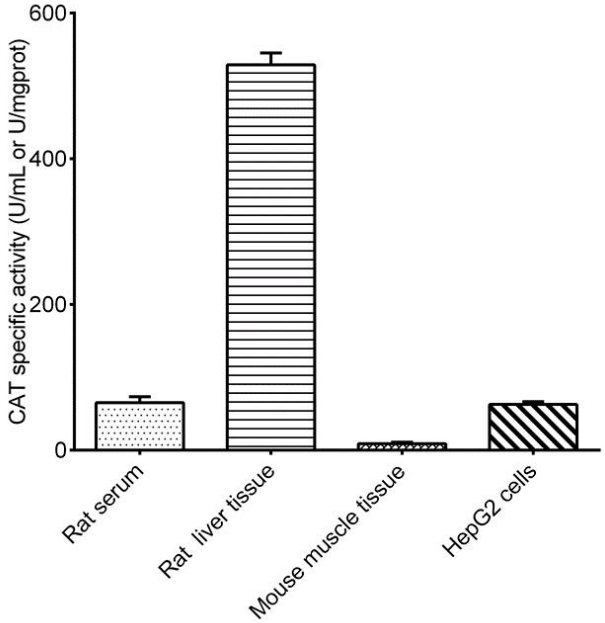
例如检测大鼠肝脏组织(数据仅供参考)：

10%大鼠肝组织匀浆用PBS（0.01 M，pH 7.4）稀释100倍，取0.02 mL稀释后的样本，按操作表操作，结果如下：

标准曲线：y =0.0026 x + 0.0022，测定管平均OD值为0.442，对照管平均OD值为0.612，10%大鼠肝组织匀浆蛋白浓度为12.38 mgprot/mL，计算结果为：

$$\text{CAT 酶活（U/mgprot）} = (0.612-0.442) \div 0.0026 \times 100 \div 12.38 = 528.15 \text{ U/mgprot}$$

按照说明书操作，测定大鼠血清（稀释2倍，加样量为20 μL）、大鼠肝组织（10%组织匀浆的蛋白含量12.38 mg/mL，稀释100倍，加样量为20 μL）、小鼠肌肉组织（10%组织匀浆的蛋白含量3.10 mg/mL，加样量为20 μL）及HepG2细胞（蛋白含量8.06 mg/mL，稀释10倍，加样量为20 μL）中过氧化氢酶酶活（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测值不稳定，复孔差异大	微量移液器使用不熟练	小心加样，避免液体溅到其它测样管中
	未严格按照说明书操作	操作前认真阅读产品说明书
	酶促反应时间不一致	保持操作一致，严格控制反应时间
样本测不出酶活	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
测定管不显色	样本酶活过高	选取合适的稀释倍数，重新检测
	反应时间过长	严格控制反应时间

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Zhang H , Feng Y ,Yanfang SiChuanhao LuJuan WangShiquan WangLiang LiWenyu XieZheming YueJia YongShuhui DaiLei ZhangXia Li.Shank3 ameliorates neuronal injury after cerebral ischemia/reperfusion via inhibiting oxidative stress and inflammation[J].redox biology, 2024, 69(February):1-18.DOI:10.1016/j.redox.2023.102983.

2. Hou B , Wang D , Yan F ,et al.Fhb7-GST catalyzed glutathionylation effectively detoxifies the trichothecene family[J].Food Chemistry, 2024(May 1):439.DOI:10.1016/j.foodchem.2023.138057.

3. Ma L ,Li Ma Li MaSchool of Design, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai , People's Republic of ChinaR&D Center for Aromatic Plants, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai , People's Republic of ChinaMore by Li Ma,,et al.Artemisia sieversiana Ehrhart ex Willd. Essential Oil and Its Main Component, Chamazulene: Their Photoprotective Effect against UVB-Induced Cellular Damage and Potential as Novel Natural Sunscreen Additives[J].ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2023(50):11.

4. Iannetta A , Zugaro S , Massimini M ,et al.Combined effects of glyphosate and chemical hypoxia in zebrafish: A new toxicological point of view[J].Chemosphere, 2024, 366.DOI:10.1016/j.chemosphere.2024.143484.

5. Fu M , Jiang X H , Wang M ,et al.Catalase catalyzed tannic acid-Fe3+ network coating: A theranostic strategy for intestinal barrier restoration[J].International Journal of Biological Macromolecules: Structure, Function and Interactions, 2024(Pt.2):274.DOI:10.1016/j.ijbiomac.2024.133304.