

(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](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://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	1 板		
	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  $\mu\text{L}$ ，200  $\mu\text{L}$ ，100  $\mu\text{L}$ ，10  $\mu\text{L}$ ）、烧杯（25 mL）、37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱或水浴锅

**耗材：**枪头（1000  $\mu\text{L}$ ，200  $\mu\text{L}$ ，10  $\mu\text{L}$ ）、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 $^{\circ}\text{C}$ 保存3个月）。

### ② 试剂一和试剂二使用前须37 $^{\circ}\text{C}$ 温育10 min。

### ③ 试剂四，须37 $^{\circ}\text{C}$ 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( $\mu\text{mol/mL}$ )	0	10	20	30	40	50	60	100
1 mmol/mL $\text{H}_2\text{O}_2$ ( $\mu\text{L}$ )	0	10	20	30	40	50	60	100
双蒸水( $\mu\text{L}$ )	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°C，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<sup>6</sup> 个细胞加入 300 μL PBS (0.01 M, pH 7.4) 匀浆。匀浆后，4°C，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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  试剂一, 20  $\mu\text{L}$  双蒸水, 200  $\mu\text{L}$  试剂三工作液及 20  $\mu\text{L}$  的试剂四, 混匀。
- ③ 静置 10 min, 分别取各管中的 200  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  试剂一, 加入至 1.5 mL EP 管中;  
测定管: 取 20  $\mu\text{L}$  待测样本、200  $\mu\text{L}$  试剂一, 加入至 1.5 mL EP 管中。
- ② 将步骤①中的各管 37 $^{\circ}\text{C}$  温育 5 min。
- ③ 取出各管, 取 20  $\mu\text{L}$  试剂二加入至对照管和测定管中, 混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$  准确反应 1 min。
- ④ 向步骤③中的测定管依次加入 200  $\mu\text{L}$  试剂三工作液和 20  $\mu\text{L}$  的试剂四, 对照管中依次加入 200  $\mu\text{L}$  试剂三工作液、20  $\mu\text{L}$  的试剂四和 20  $\mu\text{L}$  待测样本, 混匀。
- ⑤ 静置 10 min, 分别取各管中的 200  $\mu\text{L}$  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( $\mu\text{L}$ )	20
试剂一 ( $\mu\text{L}$ )	200
双蒸水 ( $\mu\text{L}$ )	20
试剂三工作液 ( $\mu\text{L}$ )	200
试剂四 ( $\mu\text{L}$ )	20
混匀, 静置 10 min, 分别取 200 $\mu\text{L}$ 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 ( $\mu\text{L}$ )		20
试剂一 ( $\mu\text{L}$ )	200	200
37°C温育 5 min		
试剂二 ( $\mu\text{L}$ )	20	20
37°C准确反应 1 min		
试剂三工作液 ( $\mu\text{L}$ )	200	200
试剂四( $\mu\text{L}$ )	20	20
样本 ( $\mu\text{L}$ )	20	
混匀, 静置 10 min, 分别取 200 $\mu\text{L}$ 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°C条件下，每毫升血清或血浆每分钟分解 1  $\mu\text{mol}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  的量为一个活力单位。

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

**组织（细胞）中 CAT 活力的计算：**

定义：37°C条件下，每毫克组织蛋白每分钟分解 1  $\mu\text{mol}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  的量为一个活力单位。

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

**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

$\Delta A$ : 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

$C_{\text{pr}}$ : 样本的蛋白浓度 (mgprot/mL)

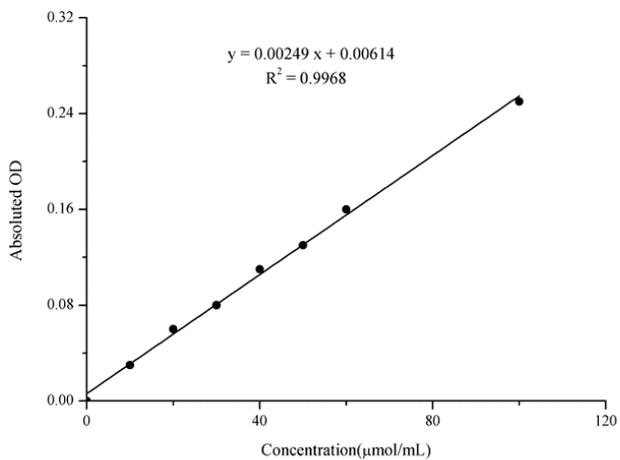
## 附录1 关键数据

### 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

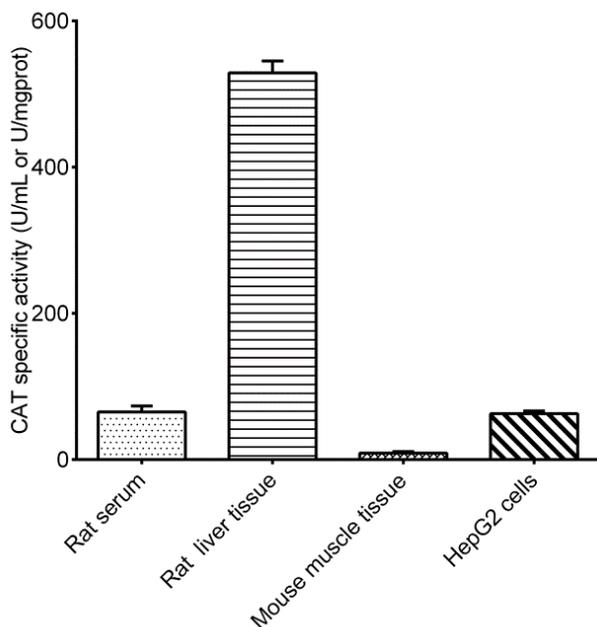
例如检测大鼠肝脏组织(数据仅供参考):

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:  $y = 0.0026x + 0.0022$ , 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  $\mu\text{L}$ )、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  $\mu\text{L}$ )、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  $\mu\text{L}$ )及HepG2细胞(蛋白含量8.06 mg/mL, 稀释10倍, 加样量为20  $\mu\text{L}$ )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. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675

11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1  $\alpha$  -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233