

(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-S

产品规格: 50 assays(25 samples)/100 assays(50 samples)

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计 (405 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、动植物组织样本及培养细胞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) (50 assays)	规格 2(Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8℃ 保存6个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	12 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存6个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 保存6个月
试剂四 (Reagent 4)	澄清剂 (Clarificant)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存6个月

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：**紫外-可见分光光度计（405 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（200 mL，100 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（5 mL，2 mL）、吸水纸、擦镜纸、磁力搅拌子。

**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：

取1瓶试剂三用60 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。

## 样本准备

### ① 样本处理

样本要求：样本中不能添加 SDS、NP-40 等去污剂

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：0.27-155.4 U/mL，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	上样量
10%大鼠肝匀浆	25-50	50 μL
10%大鼠肾匀浆	10-25	50 μL
10%大鼠脑匀浆	5-10	50 μL
人血清	不稀释	100 μL
293T 细胞上清	不稀释	100 μL

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 检测过程中，加入缓冲液和样本后需要温育 5 min。
- ② 试剂二加入后的反应时间须准确。

## 操作步骤

- ① 对照管：加入 1 mL 试剂一到 5 mL EP 管中；  
测定管：取 A mL 待测样本，1 mL 试剂一加入 5 mL EP 管中（A 为样本的加样量。血清参考加样量：0.1 mL，组织、细胞匀浆参考加样量 0.05 mL）。
- ② 将步骤①中的各管 37°C 温育 5 min。
- ③ 取出各管，对照管和测定管加入 0.1 mL 试剂二，混匀，37°C 准确反应 1 min。
- ④ 向步骤③中的各管依次加入 1 mL 试剂三工作液和 0.1 mL 的试剂四，混匀。
- ⑤ 向对照管中加入 A mL 待测样本，混匀。
- ⑥ 静置 10 min，405 nm，0.5 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测其吸光度。

## 操作表

	对照管	测定管
样本 (mL)		A
试剂一 (mL)	1	1
37°C 温育 5 min		
试剂二 (mL)	0.1	0.1
37°C 准确反应 1 min		
试剂三工作液 (mL)	1	1
试剂四 (mL)	0.1	0.1
样本 (mL)	A	
混匀，静置 10 min，双蒸水调零，波长 405 nm，0.5 cm 光径石英比色皿，测定各管吸光度。		

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

### 血清（浆）CAT 活力的计算：

定义：在 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。

$$\text{CAT 活力 (U/mL)} = \frac{\Delta A \times 32.5^*}{1^* \times V} \times f$$

### 组织、细胞中 CAT 活力的计算：

定义：在 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。

$$\text{CAT 活力 (U/mgprot)} = \frac{\Delta A \times 32.5^*}{1^* \times V} \times f \div C_{\text{pr}}$$

### 注解：

\*: 32.5 为斜率的倒数；1 为反应时间 1 min

$\Delta A$ : 样本的绝对 OD 值（对照管 OD 值-测定管 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）

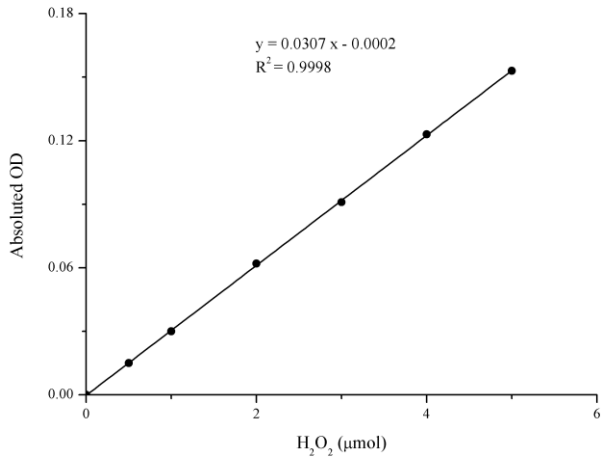
## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

检测范围	0.27-155.4 U/mL	平均批间差	5.1 %
灵敏度	0.27 U/mL	平均批内差	3.1 %
平均回收率	96 %		

### 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

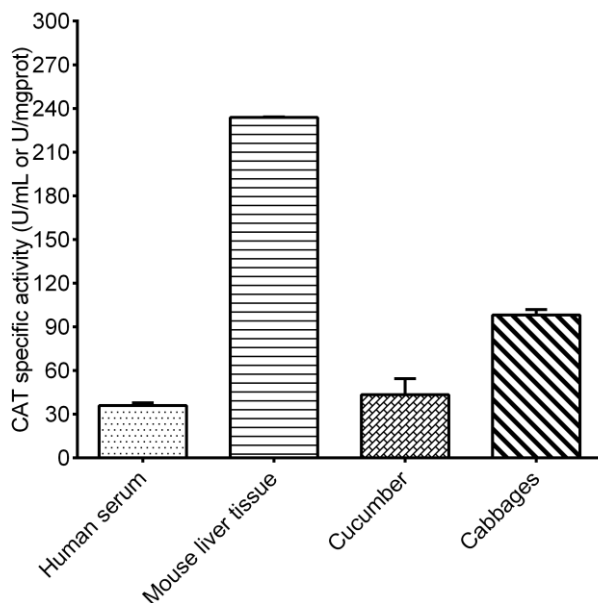
例如检测白菜叶(数据仅供参考):

取0.05 mL 10%的白菜叶匀浆上清,按说明书操作,结果如下:

对照管OD值为0.602,测定管OD值为0.351,同时测得蛋白浓度为1.64 mgprot/mL,计算结果为:

$$\text{CAT 酶活 (U/mgprot)} = \frac{(0.602-0.351) \times 32.5}{1 \times 0.05} \div 1.64 = 99.44 \text{ U/mgprot}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量0.1 mL)和小鼠肝脏组织(2%组织匀浆,蛋白含量1.82 mg/mL,加样量0.05 mL)、黄瓜(20%组织匀浆,蛋白含量0.91 mg/mL,加样量0.05 mL)及小白菜(10%组织匀浆,蛋白含量1.64 mg/mL,加样量0.05 mL) CAT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
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose

- and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113
22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- $\kappa$ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
  23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
  24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
  25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
  26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
  27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
  28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- $\beta$  Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
  29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
  30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508