

(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-F006

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 荧光酶标仪(激发波长 535 nm, 发射波长 587 nm)

Elabscience®过氧化氢酶(CAT)荧光法测试盒

Catalase (CAT) Activity Fluorometric 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(浆)及动植物组织样本中的过氧化氢酶活力。

检测原理

在检测体系中过氧化氢酶分解 H_2O_2 产生水和氧气, 未分解的过氧化氢在酶和荧光物质存在下反应, 其在激发波长 535 nm 和发射波长 587 nm 处的荧光强度与过氧化氢浓度成正比。

本试剂盒检测组织样本时, 需测定总蛋白浓度, 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 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	60 mL×1 瓶	-20 ℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	0.1 mL×1 支	-20 ℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	探针 (Probe Solution)	0.12 mL×1 支	-20 ℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	-20 ℃ 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	1 mol/L 过氧化氢标准品 (1 mol/L H_2O_2 Standard Solution)	0.4 mL×1 支	-20 ℃ 避光 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	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：荧光酶标仪(激发波长 535 nm，发射波长 587 nm)

试剂准备

① 检测前，试剂平衡至室温。

② 试剂二应用液的配制：

将试剂二用双蒸水稀释10000倍，混匀，现用现配，按需配制。

③ 试剂四应用液的配制：

每支试剂四粉剂加入120 μL 试剂一溶解，混匀，-20 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存1个月。

④ 100 $\mu\text{mol/L}$ 标准品配制：

取10 μL 试剂五加入990 μL 双蒸水，混匀，即为10 mmol/L H_2O_2 ，取10 μL 10 mmol/L H_2O_2 加入990 μL 双蒸水，混匀，即为100 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 。

⑤ 显色剂的配制：

按试剂一：试剂三：试剂四应用液=48: 1: 1的比例配制，混匀，现用现配，按需配制，避光保存。

⑥ 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($\mu\text{mol/L}$)	0	1	5	10	20	30	40	50
100 $\mu\text{mol/L}$ 标准品 (μL)	0	5	25	50	100	150	200	250
双蒸水(μL)	500	495	475	450	400	350	300	250

样本准备

① 样本处理

组织样本：匀浆介质为试剂一。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：0.01-6.51 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
小鼠血清	60-80	10%小鼠肝匀浆	2500-3000
小鼠血浆	60-80	10%小鼠肺匀浆	200-400
大鼠血清	70-80	10%大鼠肌匀浆	100-200
人唾液	30-50	10%大鼠脑匀浆	40-50
大鼠尿液	30-50	10%小鼠肾匀浆	2000-2500

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

- ① 试剂三避免反复冻融，可分装后-20℃保存。
- ② 工作液配制完成后，必须避光。
- ③ 严格控制反应时间。

操作步骤

- ① 标准孔：取 25 μL 不同浓度的标准品加入到酶标板孔中。
测定孔：取 25 μL 待测样本加入到酶标板孔中。
对照孔：取 25 μL 试剂二应用液加入到酶标板孔中。
- ② 向步骤①中的标准孔中加入 25 μL 双蒸水，测定孔中加入 25 μL 试剂二应用液。
- ③ 酶标仪上振板 10 s，37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 5 min。
- ④ 向步骤③中各孔加入 50 μL 显色剂。
- ⑤ 向对照孔中加入 25 μL 待测样本。
- ⑥ 酶标仪振板 10 s，室温避光静置 10 min，荧光酶标仪上设置激发波长 535 nm，发射波长 587 nm，测定各孔荧光值。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度的标准品(μL)	25	--	--
待测样本(μL)	--	25	--
双蒸水(μL)	25	--	--
试剂二应用液(μL)	--	25	25
酶标仪上振板 10 s，37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 5 min			
显色剂(μL)	50	50	50
待测样本(μL)	--	--	25
酶标仪振板 10 s，室温避光静置 10 min，荧光酶标仪上设置激发波长 535 nm，发射波长 587 nm，测定各孔荧光值。			

本试剂盒检测组织样本时，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。

$$\text{CAT 活力} \begin{matrix} \text{(U/L)} \end{matrix} = (\Delta F - b) \div a \div 5 \times f$$

组织中 CAT 活力的计算:

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

$$\text{CAT 活力} \begin{matrix} \text{(U/gprot)} \end{matrix} = (\Delta F - b) \div a \div 5 \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解:

y: 标准品的绝对荧光值 (标准孔荧光值-空白荧光值, 空白荧光值是标准品浓度为 0 时的荧光值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔF : 样本的绝对荧光值 (对照孔荧光值-测定孔荧光值)

5: 反应时间 5 min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度(gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

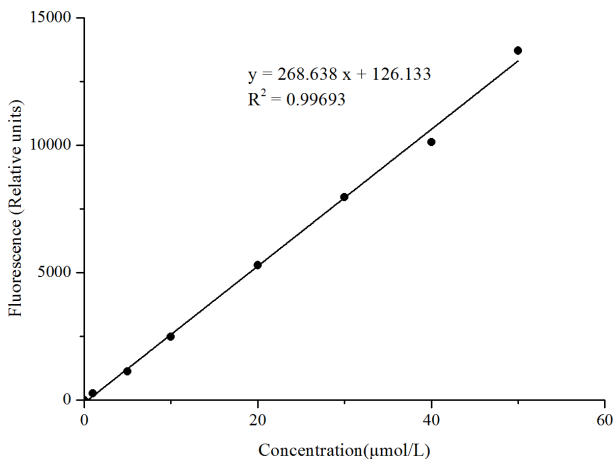
检测范围	0.01-6.51 U/L	平均批间差	6.8 %
灵敏度	0.01 U/L	平均批内差	3.4 %
平均回收率	92 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度标准品加样量25 μL, 按照操作步骤进行实验, 荧光值如下表所示:

标准品浓度 (μmol/L)	0	1	5	10	20	30	40	50
荧光值	102	351	1209	2542	5341	7984	10023	13847
	101	351	1229	2603	5434	8133	10396	13778
平均荧光值	102	351	1219	2572	5387	8058	10209	13812
绝对荧光值	0	249	1117	2471	5286	7957	10108	13711

②绘制标曲(如下图):



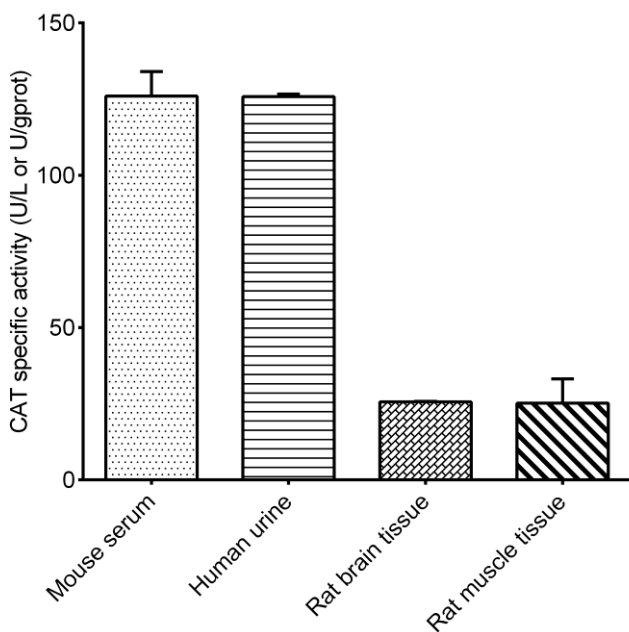
附录2 实例分析

例如检测小鼠血清(数据仅供参考):

用试剂一将小鼠血清稀释70倍,取25 μL 稀释后样本按操作表检测,结果如下:标准曲线为 $y = 268.77x - 55.205$,测定孔平均荧光值为8120,对照孔平均荧光值为10483,计算结果为:

$$\text{CAT 活力 (U/L)} = (10483 - 8120 + 55.205) \div 268.77 \div 5 \times 70 = 125.96 \text{ U/L}$$

按照说明书操作,测定小鼠血清(稀释70倍,加样量25 μL)、人尿液(稀释30倍,加样量25 μL)、大鼠脑组织(10%组织匀浆蛋白含量6.08 gprot/L,稀释50倍,加样量25 μL)、大鼠肌肉组织(10%组织匀浆蛋白含量6.73 gprot/L,稀释400倍,加样量25 μL)中过氧化氢酶活力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
标准品不成线性	标准品浓度稀释错误	按照标准品稀释表重新稀释标准品
	计算错误	按照计算公式进行计算
	使用过期的试剂	选择在保质期内的试剂
样本测不出值	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
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长
	试剂三未完全解冻	37°C使试剂三完全解冻

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 H₂O₂ 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 α -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- κ 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- β 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