اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT)

آنزیم کاتالاز (Catalase): آنزیم کاتالاز که در بیشتر سلولها یافت می شود و عمدتاً در پراکسیزوم ها وجود دارد. فعالیت کاتالیتیک، فعالیت اصلی این آنزیم بوده و طی آن هیدروژن پروکسید (H_2O_2) طبق واکنشی به آب و اکسیژن تجزیه می شود.

روشهای مختلفی برای ارزیابی فعالیت کاتالاز وجود دارد. بطور کلاسیک، فعالیت کاتالاز را از روی تغییرات غلظت H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر ارزیابی می کنند. در این روش، آنزیم کاتالاز موجود در نمونه سرم با تجزیه پراکسید هیدروژن سبب کاهش جذب این ماده در طول موج ۲۴۰ نانومتر می شود واز تفاوت جذب $\Delta A240$ در واحد زمان ، فعالیت آنزیم اندازه گیری می شود.

مواد مورد نیاز:

۱- بافر فسفات (PH=6, 0.05m): مقدار ۱/۵۱ گرم از NaH_2PO_4 و ۱۱۳/۹۶ گرم از $Na_2HHPO_4,12H_2O$ در یک ارلن یک لیتری ریخته و قبل از به حجم رساندن، PH آن را با NaOH و HCL تنظیم نمایید.

۲- پر اکسید هیدروژن (30mM): مقدار۰/۳۴ میلی لیتر از ۳۰٪H_2O_2 را با بافر فسفات به حجم ۱۰۰ میلی لیتر برسانید.(این محلول بایستی تازه تهیه شود)

۳- نمونه (سرم، پلاسما، بافت و.....)

دستور کار آزمایشگاه:

ابتدا در یک کووت مقدار ۲ میلی لیتر نمونه رقیق شده و ۱ میلی لیتر پر اکسید هیدروژن را اضافه نمایید. سپس در کووت دیگر (بلانک) مقدار ۲ میلی لیتر نمونه رقیق شده و ۱ میلی لیتر بافر فسفات را اضافه نمایید. جذب نوری هر دو کووت را در دستگاه اسپکتروفتومتر بخوانید و سپس در فرمول زیر قرار دهید.

A1 بعد از ۲۰ ثانیه، A2 بعد از ۲ دقیقه

ΔÂ=A1 -A2
ΔÂ blank>ΔÂ sample
Unite/ml= [ΔÂ/min(blank)- [ΔÂ/min(sample)]*dx/V(0.5ml*0.0436