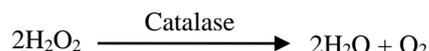




TP N°1 Dosage de l'activité enzymatique de la catalase

Introduction

La catalase est l'enzyme qui dégrade le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et dioxygène suivant la réaction :



La disparition du peroxyde d'hydrogène peut être mesurée par spectrophotométrie.

Objectif

L'évaluation de l'activité de la catalase permet l'analyse du statut oxydatif intracellulaire de l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection chez le globule rouge humain.

Principe

Le principe est basé sur la disparition de l' H_2O_2 en présence de la source enzymatique. Pour ce dosage, 20 μ l d'hémolysât (suspension de globule rouge lysée) sont additionnés de 1255 μ l d'un tampon phosphate et la réaction est déclenchée par l'ajout de 725 μ l de H_2O_2 (54 mM). Le blanc contient 20 μ l d'hémolysât et 1980 μ l d'un tampon phosphate (50 mM, pH 7.0). La diminution du H_2O_2 est enregistrée à 240 nm, à 25 °C pendant 60s. Une unité de l'activité de la catalase est définie comme l'activité nécessaire à la dégradation de 1 μ mol de peroxyde d'hydrogène pendant 60s. L'activité de la catalase est exprimée en termes de μ moles de H_2O_2 consommés/min/ml.

Matériels et réactifs

- Spectrophotomètre UV/Visible
- Centrifugeuse
- Cuve à UV
- Micropipètes (100 μ L, 1000 μ L)
- Tubes à essais
- Tampon phosphate à 50mM : (KH_2PO_4 et K_2HPO_4)
- Solution de H_2O_2
- Eau distillée.
- Echantillon de sang