

硫氧还蛋白过氧化物酶(TPX)试剂盒-可见显色法（微板法）

产品货号：BA2714

产品规格：96T

产品简介：

硫氧还蛋白过氧化物酶(TPx)属于过氧化物酶家族，普遍存在于各种生物体内，主要还原过氧化氢和一些氢过氧化物来实现抗氧化作用，功能与GPX类似，也是谷胱甘肽氧化还原循环关键酶之一。具有抗氧化和调节由过氧化氢介导的信号转导和免疫反应等功能。

本试剂盒利用TPX催化H₂O₂氧化二硫苏糖醇(DTT)，通过用硫氰酸铁法检测剩余H₂O₂，由于形成的化合物于475nm处的吸光值，进而计算出TPX活性大小。

试剂盒组分：

试剂名称	96T	保存要求	备注
提取液	液体100mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	液体35mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	粉剂mg×3支	2-8°C	用前甩几下使试剂落入底部，每支加4mL蒸馏水溶解，三天内用完。
试剂三	液体mL×1支	2-8°C	用前甩几下使试剂落入底部，取11μL至新EP管中，再加1.1mL蒸馏水混匀，接着再用蒸馏水稀释100倍备用。
试剂四	液体5mL×1瓶	2-8°C	
试剂五	粉剂mg×4支	2-8°C	用前甩几下使试剂落入底部，每支加3mL蒸馏水溶解，现配现用。
试剂六	液体5mL×1瓶	2-8°C	

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、低温离心机、移液器、研钵、冰和蒸馏水。

硫氧还蛋白过氧化物酶(TPx)活性测定：

1. 样本制备：

1) 组织样本：称取约0.1g组织(水分充足样本可取0.5g)，加入1mL提取液，在4°C或冰浴进行匀浆。4°C约12,000rpm离心10min，取上清作为待测样品。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

2) 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细菌或细胞加入1mL提取液，在4°C或冰浴进行匀浆。4°C约12,000rpm离心10min，取上清作为待测样品。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10⁴):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

3) 液体样本：直接测定。

2. 上机检测：

1) 酶标仪预热30min，调节波长到475nm。

2) 所有试剂解冻至室温(25°C)，在EP管中依次加入：

试剂名称(μL)	测定管	空白管（仅做一次）
样本	20	
蒸馏水		20
试剂一	330	330
试剂二	100	100



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

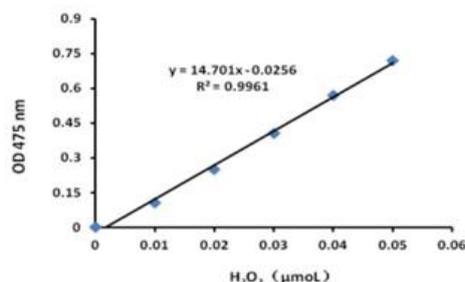
邮箱：zzlybio@126.com

混匀，室温（25℃）孵育5min		
试剂三	50	50
混匀，室温（25℃）反应2min		
试剂四	50	50
试剂五	100	100
试剂六	50	50
混匀，测定管需室温(25℃)12000rpm离心5min，再同空白管一起取200μL澄清液体至96孔板中，立即于475nm处读值， $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$ 。		

【注】若测定管没有颜色即TPx活性高，需减少样本加样体积V1(如减至5μL，则试剂一相应增加)，或缩短反应时间T(如室温反应2min缩至1min或更短)；若 ΔA 在零附近即测定管颜色接近空白管，需增加加样体积V1(如增至40μL，则试剂一相应减少)，或延长反应时间T(如延至5min或更长)；则改变后的V1和T需代入计算公式重新计算。

结果计算：

1. 标准曲线： $y = 14.701x - 0.0256$ 。x是H₂O₂摩尔质量(μmol)，y为吸光值 ΔA 。



2. 按蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克蛋白每分钟降解1μmolH₂O₂为1个酶活单位。

$$\text{TPx酶活}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0256) \div 14.701] \div (\text{Cpr} \times V1) \div T \times D = 1.7 \times (\Delta A + 0.0256) \div \text{Cpr} \times D$$

3. 按样本质量计算：

酶活定义：每克样本每分钟氧化降解1μmolH₂O₂为1个酶活单位。

$$\text{TPx酶活}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0256) \div 14.701] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D = 1.7 \times (\Delta A + 0.0256) \div W \times D$$

4. 按细胞数量计算：

酶活定义：每10⁴个细胞每分钟降解1μmolH₂O₂为1个酶活单位。

$$\text{TPx酶活}(\mu\text{mol}/\text{min}/10^4\text{cell}) = [(\Delta A + 0.0256) \div 14.701] \div (\text{细胞数量} \times V1 \div V) \div T \times D = 1.7 \times (\Delta A + 0.0256) \div \text{细胞数量} \times D$$

5. 按液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟降解1μmolH₂O₂为1个酶活单位。

$$\text{TPx酶活}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0256) \div 14.701] \div V1 \div T \times D = 1.7 \times (\Delta A + 0.0256) \times D$$

V---提取液体积，1mL；V1---上清液体积，20μL=0.02mL；D---稀释倍数；W---样本质量，g；T---反应时间，2min；Cpr---上清液蛋白浓度(mg/mL)；建议使用本公司的BCA蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 标准品母液(1μmol/mL)：即稀释100倍后备用的试剂三。
2. 把母液稀释成六个梯度：0、0.2、0.4、0.6、0.8、1μmol/mL。
3. 在EP管依次加入：20μL蒸馏水+430μL试剂一+50μL标准品+50μL试剂四+100μL试剂五+50μL试剂六，混匀取200μL澄清液体至96孔板，立即于475nm处读值，依据结果即可制作标准曲线。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com