

硫氧还蛋白过氧化物酶（TPX）活性检测试剂盒 （紫外分光光度法）

产品货号：BA1198

产品规格：50管/24样

产品简介：

TPX属于过氧化物酶家族，在体内主要通过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。TPX普遍存在于各种生物体内，如酵母、植物、动物、原生动物、寄生虫、细菌和古细菌，在进化上高度保守。TPX与细胞增殖、分化、细胞凋亡及肿瘤发生调控密切相关。TPX的主要功能包括细胞脱毒、抗氧化和调节由过氧化氢介导的信号转导和免疫反应。

TPX催化H₂O₂氧化二硫苏糖醇（DTT），H₂O₂的吸收波长为240nm，通过测定240nm吸光度的下降速率，通过对照减去过氧化氢酶（CAT）催化分解的H₂O₂，即可计算出TPX活性。因此本试剂盒可以同时测定样品TPX和CAT活性。

产品内容：

试剂一：液体100mL×1瓶，室温保存。

试剂二：液体50mL×1瓶，-20℃保存。

试剂三：液体10mL×1瓶，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调节移液器、1mL石英比色皿和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL试剂一）进行冰浴匀浆。8000rpm，4℃离心10min，取上清置冰上待检测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量（10⁴个）：试剂一体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3s，间隔7s，总时间3min），然后8000rpm，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。
3. 血清等液体：直接测定。

二、TPX测定操作：

1. 分光光度计预热30min后，调节波长到240nm，用蒸馏水调零。
2. 试剂一和试剂二在25℃（一般物种）或者37℃（哺乳动物）水浴预热30min。
3. CAT活性测定管：取1mL石英比色皿，加入20μL上清液，900μL试剂一，80μL试剂三，迅速混匀后于240nm测定10s和130s吸光度，记为A1和A2。
4. 总活性测定管：取1mL石英比色皿，加入20μL上清液，900μL试剂二，80μL试剂三，迅速混匀后于240nm测定10s和130s吸光度，记为A3和A4。

注意：每个样品都需要做对照管，以减去过氧化氢酶（CAT）催化降解的H₂O₂。

三、TPX活性计算：



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

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位 (U) 定义: 在25°C或者37°C中, 每毫克蛋白每分钟催化1nmol H₂O₂降解为一个酶活力单位。

$$\text{CAT活性 (nmol/min/mg prot)} = (A1-A2) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 573 \times (A1-A2) \div Cpr$$

$$\text{总活性 (nmol/min/mg prot)} = (A3-A4) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 573 \times (A3-A4) \div Cpr$$

$$\text{TPX活性 (nmol/min/mg prot)} = \text{总活性} - \text{CAT活性}$$

(2) 按样本质量计算

活性单位 (U) 定义: 在25°C或者37°C中, 每克样本每分钟催化1nmol H₂O₂降解为一个酶活力单位。

$$\text{CAT活性 (nmol/min/g)} = (A1-A2) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 573 \times (A1-A2) \div W$$

$$\text{总活性 (nmol/min/g)} = (A3-A4) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 573 \times (A3-A4) \div W$$

$$\text{TPX活性 (nmol/min/g)} = \text{总活性} - \text{CAT活性}$$

(3) 按细胞数量计算

活性单位 (U) 定义: 在25°C或者37°C中, 每10⁴个细胞每分钟催化1nmol H₂O₂降解为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{CAT活性 (nmol/min/10}^4\text{cell)} &= (A1-A2) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 573 \times (A1-A2) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{总活性 (nmol/min/10}^4\text{cell)} &= (A3-A4) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 573 \times (A3-A4) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

$$\text{TPX活性 (nmol/min/10}^4\text{cell)} = \text{总活性} - \text{CAT活性}$$

(4) 按液体体积计算

活性单位 (U) 定义: 在25°C或者37°C中, 每毫升液体每分钟催化1nmol H₂O₂降解为一个酶活力单位。

$$\text{CAT活性 (nmol/min/mL)} = (A1-A2) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 573 \times (A1-A2)$$

$$\text{总活性 (nmol/min/mL)} = (A3-A4) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 573 \times (A3-A4)$$

$$\text{TPX活性 (nmol/min/mL)} = \text{总活性} - \text{CAT活性}$$

ϵ : H₂O₂的微摩尔消光系数, 43600L/mol/cm=0.0436 L/ μ mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V反总: 反应体系总体积 (L), 1000 μ L=0.001L; Cpr: 上清液蛋白质浓度 (mg/mL); V样: 加入反应体系中上清液体积 (mL), 20 μ L=0.02mL; T: 反应时间 (min), 2 min; W: 样品鲜重, g; V样总: 提取液体积, 1mL。



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