

硫氧还蛋白过氧化物酶(TPX)试剂盒-可见显色法

(可见分光光度法)

产品货号: BA2713

产品规格: 48样

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 H_2O_2 氧化二硫苏糖醇(DTT), 通过用硫氰酸铁法检测剩余 H_2O_2 , 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	48样	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂mg×3支	2-8℃	用前甩几下使试剂落入底部, 每支加2mL蒸馏水溶解, 三天内用完。
试剂三	液体mL×1支	2-8℃	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3mL×1瓶	2-8℃	
试剂五	粉剂mg×4支	2-8℃	用前甩几下使试剂落入底部, 每支加1.5mL蒸馏水溶解, 现配现用。
试剂六	液体2.5mL×1瓶	2-8℃	

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、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℃或冰浴进行匀浆。4℃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℃或冰浴进行匀浆。4℃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(10^4):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:



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

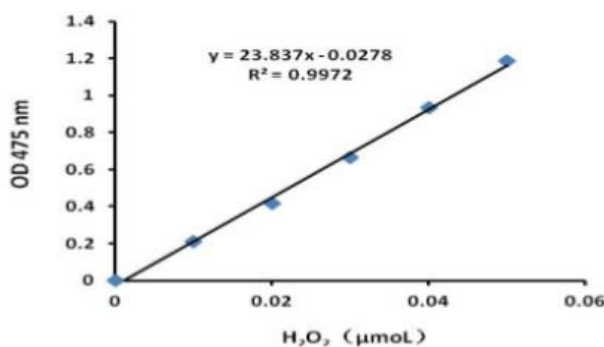
- 1) 可见分光光度计预热30min，调节波长到475nm，蒸馏水调零。
- 2) 所有试剂解冻至室温(25℃)，在EP管中依次加入：

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
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，再同空白管一起取全部澄清液体至1mL玻璃比色皿（光径1cm）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=23.837x-0.0278。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。

$$\text{TPx酶活}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot})=[(\Delta A+0.0278)\div 23.837]\div(\text{Cpr}\times V1)\div T\times D=1.05\times(\Delta A+0.0278)\div \text{Cpr}\times D$$

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。

$$\text{TPx酶活}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 鲜重})=[(\Delta A+0.0278)\div 23.837]\div(W\times V1\div V)\div T\times D=1.05\times(\Delta A+0.0278)\div W\times D$$

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。

$$\text{TPx酶活}(\mu\text{mol}/\text{min}/10^4\text{cell})=[(\Delta A+0.0278)\div 23.837]\div(\text{细胞数量}\times V1\div V)\div T\times D=1.05\times(\Delta A+0.0278)\div \text{细胞数量}\times D$$

5. 按液体体积计算：



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

酶活定义：每毫升液体每分钟降解 $1\mu\text{molH}_2\text{O}_2$ 为1个酶活单位。

TPx酶活($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$)= $[(\Delta A+0.0278)\div 23.837]\div V1\div T\times D=1.05\times(\Delta A+0.0278)\times D$

V---提取液体积, 1mL; V1---上清液体积, $20\mu\text{L}=0.02\text{mL}$; 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($1\mu\text{mol}/\text{mL}$)：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、 $1\mu\text{mol}/\text{mL}$ 。
3. 在EP管依次加入： $20\mu\text{L}$ 蒸馏水+ $430\mu\text{L}$ 试剂一+ $50\mu\text{L}$ 标准品+ $50\mu\text{L}$ 试剂四+ $100\mu\text{L}$ 试剂五+ $50\mu\text{L}$ 试剂六，混匀取澄清液体至1mL玻璃比色皿（光径1cm）中，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