

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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

2. 上机检测:

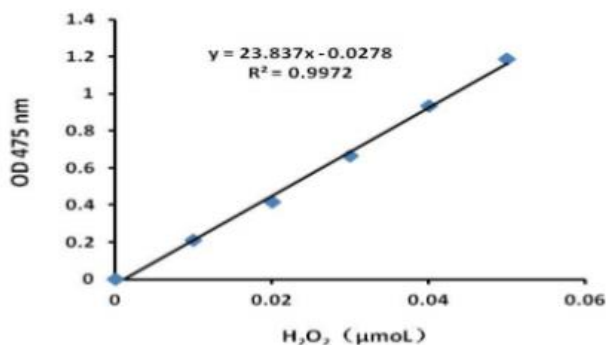
- 1) 可见分光光度计预热30min, 调节波长到475nm, 蒸馏水调零。
- 2) 所有试剂解冻至室温(25°C), 在EP管中依次加入:

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
混匀, 室温 (25°C) 孵育5min		
试剂三	50	50
混匀, 室温 (25°C) 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°C)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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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:

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

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>