

硫氧还蛋白过氧化物酶（TPX）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1199

产品规格：100管/96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，即可计算出TPX活性。

产品内容：

试剂一：液体120ml×1瓶，室温保存。

试剂二：液体20ml×1瓶，-20℃避光保存。

试剂三：液体2ml×1瓶，4℃避光保存。

需自备的仪器和用品：

酶标仪或紫外分光光度计（能测240nm处的吸光度）及水浴锅、96孔UV微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头低温离心机、制冰机、去离子水、匀浆器（如果是组织样本）。

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：

取微量石英比色皿或96孔板，加入4μL上清液，180μL试剂二，16μL试剂三，迅速混匀后于240nm测定10s和130s吸光度，记为A1和A2。

三、TPX活性计算：

a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

（1）按蛋白浓度计算

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

$$\text{TPX活性 (nmol/min/mg prot)} = (A1 - A2) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反应}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 573 \times (A1 - A2) \div C_{\text{pr}}$$

（2）按样本质量计算

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

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



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

(3) 按细胞数量计算

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

TPX活性 (nmol/min/10⁴cell) = (A1-A2) ÷ ε ÷ d × V反总 ÷ (细胞数量 × V样 ÷ V样总) ÷ T = 573 × (A1-A2) ÷ 细胞数量

(4) 按液体体积计算

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

TPX活性 (nmol/min/mL) = (A1-A2) ÷ ε ÷ d × V反总 ÷ V样 ÷ T = 573 × (A1-A2)

ε: H₂O₂的微摩尔消光系数, 43600L/mol/cm=0.0436 L/μmol/cm;

d: 比色皿光径, 1cm;

V反总: 反应体系总体积 (L), 200μL=2×10⁻⁴L;

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), 4μL=4×10⁻³mL;

T: 反应时间 (min), 2min;

W: 样品鲜重, g;

V样总: 提取液体积, 1mL。

b. 使用96孔板测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

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

TPX活性 (nmol/min/mg prot) = (A1-A2) ÷ ε ÷ d × V反总 ÷ (Cpr × V样) ÷ T = 1146 × (A1-A2) ÷ Cpr

(2) 按样本质量计算

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

TPX活性 (nmol/min/g) = (A1-A2) ÷ ε ÷ d × V反总 ÷ (W × V样 ÷ V样总) ÷ T = 1146 × (A1-A2) ÷ W

(3) 按细胞数量计算

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

TPX活性 (nmol/min/10⁴cell) = (A1-A2) ÷ ε ÷ d × V反总 ÷ (细胞数量 × V样 ÷ V样总) ÷ T = 1146 × (A1-A2) ÷ 细胞数量

(4) 按液体体积计算

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

TPX活性 (nmol/min/mL) = (A1-A2) ÷ ε ÷ d × V反总 ÷ V样 ÷ T = 1146 × (A1-A2)

ε: H₂O₂的微摩尔消光系数, 43600L/mol/cm=0.0436 L/μmol/cm;

d: 比色皿光径, 0.5cm;

V反总: 反应体系总体积 (L), 200μL=2×10⁻⁴L;

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), 4μL=4×10⁻³mL;

T: 反应时间 (min), 2min;

W: 样品鲜重, g;

V样总: 提取液体积, 1mL。



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