



线粒体转氢酶-1 活性检测试剂盒

**Mitochondrial Transhydrogenase-1 Activity Assay Kit**



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 线粒体转氢酶-1 活性检测试剂盒

## Mitochondrial Transhydrogenase-1 Activity Assay Kit

## 一、产品描述

线粒体转氢酶位于线粒体的内膜上，可催化 NADH 和 NADP<sup>+</sup> 与 NAD<sup>+</sup> 和 NADPH 之间的相互转化，催化正向反应称为线粒体转氢酶-1 (TH-1)，促进 NADH 转换为 NADPH，从而提高线粒体的抗氧化能力。

线粒体转氢酶-1 能够催化 APADP<sup>+</sup> (3-乙酰吡啶腺嘌呤二核苷酸磷酸) 还原生成的 APADPH，产物在 375 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的增加速率即可表征线粒体转氢酶-1 的活性。

## 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液 A	液体 50 mL×1 瓶	-20°C 保存	-
提取液 B	液体 25 mL×1 瓶	-20°C 保存	-
基质液	组分 A	液体 25 mL×2 瓶	使用前分别取一支组分 B 和组分 C 加入一瓶组分 A 中充分溶解即为基质液 (配置后-20°C分装保存, 避免反复冻融)
	组分 B	粉剂×2 支	
	组分 C	粉剂×2 支	

## 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 石英比色皿 (光径 10 mm)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴和蒸馏水。

## 1. 样本处理 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①称取 0.1 g 组织或收集 500 万细胞，加入 1 mL 提取液 A，使用匀浆器或研钵冰浴研磨至匀浆，匀浆液 4°C 600 g 离心 10 min，弃沉淀，留上清；

②取匀浆液离心上清液移至另一离心管中，4°C 11000 g 离心 15 min；

③步骤②离心后上清液即胞浆提取物，可用于测定从线粒体泄漏的转氢酶-1 (此步可选做)。

④步骤②离心后沉淀中加入 500 μL 提取液 B，冰浴超声破碎 (功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次) 即为粗酶液，用于线粒体转氢酶-1 活性测定。

## 2.测定步骤

- ①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 375 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将根据使用量取用**基质液**，37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）预热 5min。
- ③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )
粗酶液	100
基质液	1000

**吸光值测定：**充分混匀并立即开始计时，测定 375 nm 处初始吸光值和 10 min 后吸光值，记为 A1 和 A2；计算  $\Delta A = A2 - A1$ 。

## 3.线粒体转氢酶-1 活性计算

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 nmol APADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Transhydrogenase-1 (U/mg prot)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{164 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 nmol APADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Transhydrogenase-1 (U/g)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{82 \times \Delta A}{W}$$

- ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟催化生成 1 nmol APADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Transhydrogenase-1 (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{82 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 样总：提取过程中加入提取液 B 的体积，0.5 mL；V 反总：反应体系总体积， $1.1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：APADPH 摩尔消光系数， $6.7 \times 10^3$  L/mol/cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1 cm；T：反应时间，10 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

#### 四、注意事项

为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**boxbio**

**Manufactured and Distributed by**

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: [techsupport@boxbio.cn](mailto:techsupport@boxbio.cn)

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

