



硫氧还蛋白过氧化物酶 (TPX) 活性检测试剂盒
Thioredoxin Peroxidase (TPX) Activity Assay Kit



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



硫氧还蛋白过氧化物酶 (TPX) 活性检测试剂盒

Thioredoxin Peroxidase (TPX) Activity Assay Kit

一、产品描述

硫氧还原蛋白过氧化物酶(TPX)属于过氧化物酶家族,在细胞内起着重要的氧化还原调节作用,通过还原过氧化氢等有害物质,保护细胞免受氧化损伤,还参与了多种细胞信号通路的调节,包括细胞凋亡、细胞周期等,其活性分析对于深入了解细胞内的氧化还原调节机制具有重要意义。

硫氧还蛋白过氧化物酶可催化 H_2O_2 氧化二硫苏糖醇(DTT), H_2O_2 在 240 nm 处具有特征吸收峰,通过吸光值变化即可表征硫氧还蛋白过氧化物酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
试剂一	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 20 mL×1 瓶	-20°C保存
试剂三	液体 2 mL×1 瓶	4°C保存

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿(光径 10 mm)/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备(可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

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 0.1 g 组织,加入 1 mL 试剂一)处理样品,冰浴匀浆,4°C 8000 g 离心 10 min,取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,按照细菌或细胞数量(10^4 个):试剂一体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一)处理样品,冰浴超声破碎(功率 20%或 200 W,超声 3 s,间隔 10 s,重复 30 次),4°C 8000 g 离心 10 min,取上清置于冰上待测。

③血清等液体样本:直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 240 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将试剂二 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）预热 30 min 以上。
- ③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	4
试剂二	180
试剂三	16

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 240 nm 处吸光值，记为 A1；②37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）准确反应 120 s，测定 130 s（总时间）时 240 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A=A1-A2$ 。

3.硫氧还蛋白过氧化物酶（TPX）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

- ①按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPX (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1146.79 \times \Delta A}{W}$$

- ②按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPX (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1146.79 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- 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消耗 1 nmol H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPX (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1146.79 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 1×10^{-3} L； ε ： H_2O_2 摩尔消光系数， 4.36×10^4 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；T：反应时间，2 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； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPX (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{573.39 \times \Delta A}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPX (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{573.39 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10⁴ 个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPX (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{573.39 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，1×10⁻³ L；ε：H₂O₂ 摩尔消光系数，4.36×10⁴ L/mol/cm；d₂：微量石英比色皿光径，1 cm；T：反应时间，2 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；10⁹：单位换算系数，1 mol=10⁹ nmol。

四、注意事项

①准确在相应时间点完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；

②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

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

