

# 硫氧还蛋白过氧化物酶（TPX）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1026

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞、细菌

## 产品简介

硫氧还蛋白过氧化物酶（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，功能与谷胱甘肽过氧化物酶（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。本试剂盒提供了一种简单的检测方法检测生物样本，如血清（浆）、动植物组织、细胞及细菌样本中 TPX 的活性。TPX 催化  $H_2O_2$  氧化二硫苏糖醇（DTT），通过测定 240 nm ( $H_2O_2$  的吸收波长) 吸光度的下降速率，用总活性减去过氧化氢酶（CAT）催化分解的  $H_2O_2$ ，即可计算出 TPX 活性。本试剂盒可以同时测定样品 TPX 和 CAT 活性。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	60mL	120mL	室温
试剂二	10mL	20mL	-20℃避光保存
试剂三	1mL	2mL	4℃避光保存

## 自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 240 nm 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）

## 试剂准备

试剂一：即用型；室温保存。  
试剂二：即用型；使用前，平衡至室温；-20℃避光保存。  
试剂三：即用型；使用前，平衡至室温；4℃避光保存。

## 样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 试剂一，冰浴匀浆，8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。  
细胞、细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 试剂一，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200 W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。  
血清等液体的准备：直接测定。  
**注意：1. 推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月，样品处理等过程均需要在冰上进行，且须在当日测定酶活力，匀浆液避免反复冻融。**

## 产品说明书

2. 细胞中 TPX 活性测定时, 细胞数目须在  $3-5 \times 10^6$  之间, 细胞中 TPX 的提取时可加试剂一后匀浆或超声波处理, 不能用细胞裂解液处理细胞。
3. 如需测定蛋白浓度, 推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒, 进行样本蛋白质浓度测定。

### 实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 240nm, 紫外分光光度计去离子水调零。
2. 试剂一和试剂二置于 25°C (一般物种) 或者 37°C (哺乳动物) 预热 30min。
3. 样本测定: 在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中加样, 每孔先加入 4  $\mu$ L 样本上清液, 再加入 180  $\mu$ L 试剂一 (CAT 活性测定) 或 180  $\mu$ L 试剂二 (总活性测定), 最后加入 16  $\mu$ L 试剂三, 充分混匀。测定 240nm 处的吸光值, 分别记录 10s 和 130s 吸光值, 测 CAT 活性记为  $A_1$  和  $A_2$ , 测总活性测定记为  $A_3$  和  $A_4$ 。

注意: 1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

2. 测定反应的温度对测定结果有影响, 请控制在 25°C (一般物种) 或者 37°C (哺乳动物)。
3. 因通过反应速率计算酶活, 使用 96 孔 UV 板时请根据操作速度控制一次测定的样本数 (通常一次测定 4-8 个样本)。

### 结果计算

A. 使用 96 孔 UV 微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: 25°C 或者 37°C 中, 每毫克蛋白每分钟催化 1nmol  $H_2O_2$  降解为 1 个酶活单位。

$$\text{CAT 活性 (U/mg prot)} = (A_1 - A_2) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 1147 \times (A_1 - A_2) \div Cpr$$

$$\text{总活性 (U/mg prot)} = (A_3 - A_4) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 1147 \times (A_3 - A_4) \div Cpr$$

$$\text{TPX 活性 (U/mg prot)} = \text{总活性} - \text{CAT 活性}$$

(2) 按样本鲜重计算

活性单位(U)定义: 25°C 或者 37°C 中, 每克样品每分钟催化 1nmol  $H_2O_2$  降解为 1 个酶活单位。

$$\text{CAT 活性 (U/g 鲜重)} = (A_1 - A_2) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1147 \times (A_1 - A_2) \div W$$

$$\text{总活性 (U/g 鲜重)} = (A_3 - A_4) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1147 \times (A_3 - A_4) \div W$$

$$\text{TPX 活性 (U/g 鲜重)} = \text{总活性} - \text{CAT 活性}$$

(3) 细胞数量计算

活性单位(U)定义: 25°C 或者 37°C 中, 每  $10^4$  个细胞每分钟催化 1nmol  $H_2O_2$  降解为 1 个酶活单位。

$$\text{CAT 活性 (U/} 10^4 \text{ cells)} = (A_1 - A_2) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1147 \times (A_1 - A_2) \div 500 = 2.294 \times (A_1 - A_2)$$

$$\text{总活性 (U/} 10^4 \text{ cells)} = (A_3 - A_4) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1147 \times (A_3 - A_4) \div 500 = 2.294 \times (A_3 - A_4)$$

$$\text{TPX 活性 (U/} 10^4 \text{ cell)} = \text{总活性} - \text{CAT 活性}$$

(4) 按液体体积计算

活性单位(U)定义: 25°C 或者 37°C 中, 每毫升液体每分钟催化 1nmol  $H_2O_2$  降解为 1 个酶活单位。

$$\text{CAT 活性 (U/mL)} = (A_1 - A_2) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 1147 \times (A_1 - A_2)$$

$$\text{总活性 (U/mL)} = (A_3 - A_4) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 1147 \times (A_3 - A_4)$$

$$\text{TPX 活性 (U/mL)} = \text{总活性} - \text{CAT 活性}$$

$\epsilon$ :  $H_2O_2$  摩尔消光系数, 43600 L/mol/cm=0.0436 mL/nmol/cm; d: 96 孔板光径, 0.5cm;  $V_{\text{反应}}$ : 反应体系总体积, 200  $\mu$ L=0.2mL; Cpr: 上清液蛋白质浓度, mg/mL; W: 样品质量, 0.1g;  $V_{\text{样}}$ : 加入反应体系中上清液体积, 4  $\mu$ L =  $4 \times 10^{-3}$  mL;  $V_{\text{样总}}$ : 提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 2min; 500: 细胞数量,  $5 \times 10^6$ 。

B. 使用微量石英比色皿进行测定的计算公式

将上述计算公式中光径 d: 0.5cm 调整为 d: 1cm 进行计算即可。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品:

PMK1021 硫氧还蛋白还原酶 (TrxR) 检测试剂盒 (微量法)



## 产品说明书

PMK1025 谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1037 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1038 过氧化物酶 (POD) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：