

硫氧还蛋白过氧化物酶（TPX）活性测试盒

紫外比色法 100T/48 样

一、测定原理

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, 通过对照减去过氧化氢酶 (CAT) 催化分解的 H₂O₂, 即可计算出 TPX 活性。因此, 本试剂盒可以同时测定样品 TPX 和 CAT 活性。

二、自备仪器用品

低温离心机、紫外分光光度计、水浴锅、1ml 石英比色皿、可调节移液枪、蒸馏水

三、试剂组成和配制

试剂一 液体×1 瓶, 室温保存;

试剂二 液体×1 瓶, -20° C 保存;

试剂三 液体×1 支, 4° C 保存。

四、粗酶液提取

粗酶液提取详见说明书。测定组织和细胞同时需要测定蛋白浓度。可用总蛋白定量测试盒(考马斯亮蓝法)或者总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

五、TPX 测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长到 240nm, 用蒸馏水调零;

2、试剂一和试剂二置于 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 预热 30min 以上;

3、CAT 活性测定管: 取 1ml 石英比色皿, 加入 20 μl 上清液, 900 μl

试剂一, 80 μl 试剂三, 迅速混匀后与 240nm 测定 10s 和 130s 吸光度, 分别为 A1 和 A2, 计算 $\Delta ACAT=A1-A2$

4、总活性测定管: 取 1ml 石英比色皿, 加入 20 μl 上清液, 900 μl 试剂二, 80 μl 试剂三, 迅速混匀后与 240nm 测定 10s 和 130s 吸光度, 分别为 A3 和 A4。 $\Delta A_{总}=A3-A4$

注: 对大量样品, 每个样品都需要单独测定其 CAT 活性。