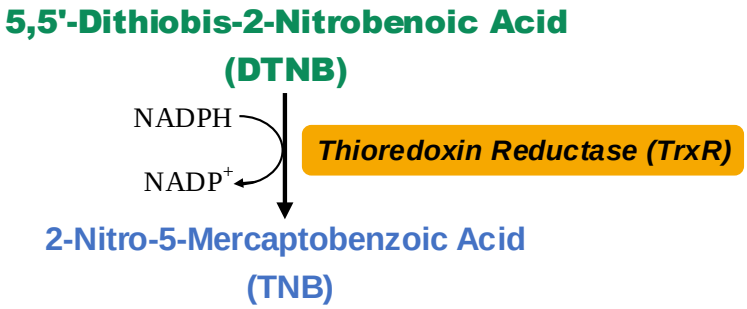
硫氧还蛋白还原酶（TrxR）活性检测试剂盒

Thioredoxin Reductase (TrxR) Activity Assay Kit



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

Catalog Number **AKCO010C**
Storage Temperature **-20°C**
Size **50T/48S**

Visible Spectrophotometry

硫氧还蛋白还原酶（TrxR）活性检测试剂盒

Thioredoxin Reductase (TrxR) Activity Assay Kit

一、产品描述

硫氧还蛋白还原酶（TrxR）是一种 NADPH 依赖的包含 FAD 结构域的二聚体硒酶，属于吡啶核苷酸-二硫化物氧化还原酶家族成员，与硫氧还蛋白以及 NADPH 共同构成了硫氧还蛋白系统。TrxR 与 GR 活性类似，能够催化 GSSG 还原生成 GSH，是谷胱甘肽氧化还原循环关键酶之一。

硫氧还蛋白还原酶能够催化 NADPH 还原 DTNB 生成 TNB 和 $NADP^+$，并利用 2-乙烯吡啶抑制还原型谷胱甘肽与 DTNB 反应生成的 TNB，TNB 在 412 nm 处具有特征吸收峰，通过测定 412 nm 处吸光值增加速率即可表征硫氧还蛋白还原酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	液体 100 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	粉剂×2 瓶	-20℃保存	**使用前每瓶加入 3.33 mL 蒸馏水充分溶解**（分装后-20℃可保存 2 周，避免反复冻融）
试剂四	液体 30 μL×1 支	-20℃保存	-
检测工作液的配制（现用现配）：根据使用量按照试剂四：无水乙醇=1:9 的体积比配制，充分混匀即为检测工作液。			

需自备试剂：无水乙醇（C_2H_6O，MW = 46.07，CAS: 64-17-5）；

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 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、无水乙醇和蒸馏水。

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 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 10000 g 离心 10 min，吸取 100 μL 上清液加入 2 μL 检测工作液充分混匀，37℃水浴 30 min 即为**粗酶液**，置于冰上待测。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

②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，4℃ 10000 g 离心 10 min，吸取 100 μL 上清液加入 2 μL 检测工作液充分混匀，37℃水浴 30 min 即为**粗酶液**，置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 412 nm，蒸馏水调零。

②试验前将**试剂一** 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 30 min。

③在 1 mL 玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组（μL）	空白组（μL）
试剂二	100	100
试剂三	100	100
试剂一	700	800
粗酶液	100	-

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 412 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37℃准确反应 300 s，测定 310 s（总时间）时 412 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算ΔA 测定=A2 测定-A1 测定，ΔA 空白=A2 空白-A1 空白，ΔA=ΔA 测定-ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.硫氧还蛋白还原酶（TrxR）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol TNB 所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{TrxR（U/mg prot）} = \frac{\Delta A \times V_{反总} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times Cpr \times V_{样} \times T} = \frac{147 \times \Delta A}{Cpr}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol TNB 所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{TrxR（U/g）} = \frac{\Delta A \times V_{反总} \times V_{样总} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times W \times V_{样} \times T} = \frac{147 \times \Delta A}{W}$$

③按细胞或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol TNB 所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{TrxR（U/}10^4\text{ cell）} = \frac{\Delta A \times V_{反总} \times V_{样总} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times 细菌或细胞数量 \times V_{样} \times T} = \frac{147 \times \Delta A}{细菌或细胞数量}$$

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，100 μL=0.1 mL；V 反总：反应体系总体积，1000 μL=1×10^{-3} L；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；ε：TNB 摩尔消光系数，1.36×10^{4} L/mol/cm；d：1 mL 玻璃比色皿光径，1 cm；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；T：反应时间，5 min。

四、注意事项

①试剂一中含有约 0.1 mg/mL 蛋白，测定样品蛋白浓度时需减去提取液自身的蛋白含量；

②准确在 10 s 和 310 s 处完成吸光值测定，以确保试验结果的准确性和重复性；

③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.