

硫氧还蛋白氧化还原酶(TrxR)活性 测试盒说明书（简化版）

(Thioredoxin Reductase 分光光度法 50T/48 样)

一、测定原理:

TrxR 催化 NADPH 还原 DTNB 生成 TNB 和 NADP⁺, TNB 在 412nm 有特征吸收峰, 通过测定 412nm 波长处 TNB 的增加速率, 即可计算 TrxR 活性。

二、自备实验用品及仪器:

可见分光光度计、低温离心机、可调节移液器、1ml 玻璃比色皿和蒸馏水。

三、试剂组成和配制:

试剂一: 液体×1 瓶, 4℃保存

试剂二: 液体×1 瓶, 4℃避光保存。

试剂三: 粉剂 L×1 瓶, 4℃保存。临用前加入 5ml 蒸馏水溶解。

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。可用本所的 A045-2 总蛋白定量测试盒(考马斯亮蓝法)或者 A045-3、A045-4 总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

五、TrxR 测定操作:

1、分光光度计预热 30min 后, 调节波长到 412nm, 用蒸馏水调零。

2、试剂一在 25℃ (一般物种) 或者 37℃ (哺乳动物) 预热 30min。

3、空白管: 取 1ml 玻璃比色皿, 加入 100μl 试剂二, 100μl 试剂三, 800μl 试剂一, 迅速混匀后于 412nm 测定 10s 和 310s 吸光度, 记为 A1 和 A2。ΔA 空白管=A2-A1。

4、测定管: 取 1ml 玻璃比色皿, 加入 100μl 试剂二, 100μl 试剂三, 700μl 试剂一, 100μl 上清液, 迅速混匀后于 412nm 测定 10s 和 310s 吸光度, 记为 A3 和 A4。ΔA 测定管=A4-A3。