Customer service: service@abbkine.com
Technical support: support@abbkine.com
Website: https://www.abbkine.com

CheKine™ 线粒体转氢酶-1（TH-1）活性检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB1830 Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	线粒体转氢酶-1（TH-1）活性检测试剂盒（微量法）		
REF	**货号：**KTB1830	LOT	**批号：**见产品标签
	适用样本：动植物组织		
	保质期：-20℃，避光保存 6 个月		

原理

转氢酶（TH）位于线粒体的内膜上，又称为线粒体复合体六，催化 NADH+$NADP^+$和 NAD^++NADPH 相互转化，调节线粒体 NAD(H)和 NADP(H)平衡。把正向反应称为 TH-1，线粒体 NADH 含量增加时会导致线粒体膜的 H^+电化学梯度升高，因而促进了电子传递链上 ROS 的产生。TH-1 促进 NADH 转换为 NADPH，从而提高线粒体的抗氧化能力。CheKine™ 线粒体转氢酶-1（TH-1）活性检测试剂盒（微量法）可检测动植物组织生物样本。在该试剂盒中，NADH 和 NADPH 均在 340 nm 有特征吸收，因此 TH 催化的转氢反应不能导致 340 nm 吸光度发生变化。用人工合成底物 3-乙酰吡啶腺嘌呤二核苷酸（$APADP^+$）替代 $NADP^+$，TH-2 催化 $APADP^+$还原生成 APADPH，APADPH 在 375 nm 有特征光吸收，测定 375 nm 光吸收的增加速率，来计算 TH-1 活性。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	**96 T**	
Reagent Ⅰ	60 mL	60 mL×2	-20℃
Reagent Ⅱ	30 mL	60 mL	-20℃
Reagent Ⅲ	10.8 mL	21.6 mL	4℃
Reagent Ⅳ	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃，避光保存
Reagent Ⅴ	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃，避光保存

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或紫外光分光光度计（能测 375 nm 处的吸光度）
- 96 孔 UV 板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、1.5 mL 离心管
- 水浴锅、低温离心机
- 去离子水
- 匀浆器或研钵（如果是组织样本）

Abbkine, Inc • • www.abbkine.com
Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

试剂准备

Reagent Ⅰ：即用型；使用前，平衡到室温。-20℃保存。

Reagent Ⅱ：即用型；使用前，平衡到室温。-20℃保存。

Working Reagent：临用前配制；将 Reagent Ⅳ、Ⅴ转移到 Reagent Ⅲ 中混合溶解，置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 5 min；用不完的试剂分装后-20℃避光保存 1 个月，禁止反复冻融。

样本制备

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

组织中胞浆蛋白与线粒体蛋白的分离：

1．称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Reagent Ⅰ，用匀浆器或研钵冰浴匀浆；

2．600 g，4℃离心 5 min。弃沉淀，将上清液移至另一离心管中；

3．11,000 g，4℃离心 10 min，此步中上清液即为除去线粒体的胞浆蛋白，可用于测定从线粒体泄漏的 TH-1（可选做）；

4．步骤 3 中沉淀即为线粒体，加入 500 μL Reagent Ⅱ，超声波破碎（冰浴，功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），用于 TH-1 活性测定。

实验步骤

1. 酶标仪或紫外光分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 375 nm，紫外光分光光度计用去离子水调零。

2. 操作表（下述操作在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中操作）：

试剂	测定孔（μL）
样本	20
Working Reagent	180

3. 混匀，立即记录 375 nm 处初始吸光值 A1 和 10 min 后的吸光值 A2，计算ΔA=A2-A1。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果ΔA 小于 0.25 可适当加大样本量。如果ΔA 大于 1.2，样本可用 Reagent Ⅰ 或 Reagent Ⅱ 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

TH-1 活性的计算：

1.按样本鲜重计算：

酶活单位定义：每 g 组织每分钟产生 1 nmol APADPH 定义为一个酶活性单位。

TH-1(U/g 鲜重)=[ΔA×$V_{反总}$÷(ε×d)×10^9]÷(W×$V_{样}$÷$V_{样总}$)÷T**=149×ΔA÷W**

$V_{反总}$：反应总体积，2×10^{-4} L；ε：APADPH 摩尔消光系数，6.7×10^3 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；$V_{样}$：反应体系中加入样本体积，0.02 mL；$V_{样总}$：加入 Reagent Ⅱ 体积，0.5 mL；W：样本质量，g；T：反应时间，10 min。

结果展示

以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

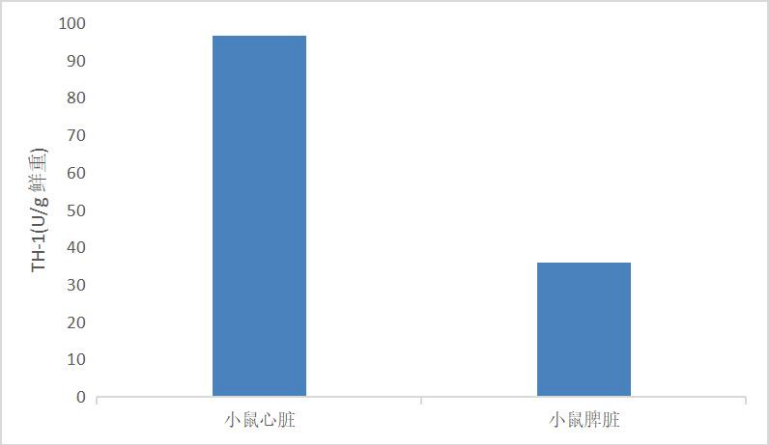


Figure 1. 本试剂盒测定小鼠心脏和小鼠脾脏中 TH-1 的活性

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1850	CheKine™ 线粒体呼吸链复合体 I 检测试剂盒（微量法）
KTB1860	CheKine™ 线粒体呼吸链复合体 II 检测试剂盒（微量法）
KTB1870	CheKine™ 线粒体呼吸链复合体III检测试剂盒（微量法）
KTB1880	CheKine™ 线粒体呼吸链复合体IV检测试剂盒（微量法）
KTB1890	CheKine™ 线粒体呼吸链复合体 V 检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.