

谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX/GPX)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHB6-C24	谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX/GPX)活性检测试剂盒	24T	常量法
AMHB6-C48	剂盒	48T	

一、测定意义：

谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX/GPX)是机体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶。它特异的催化还原型谷胱甘肽(GSH)对过氧化氢的还原反应，可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。GSH-PX/GPX的活性中心是硒半胱氨酸，硒是GSH-PX/GPX的必需部分，每克分子酶含4克原子硒。测定GSH-PX/GPX的活力可以作为衡量机体硒水平的一项生化指标。

二、测定原理：

谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX/GPX)可以促进过氧化氢(H₂O₂)与还原型谷胱甘肽(GSH)反应生成H₂O及氧化型谷胱甘肽(GSSG)，谷胱甘肽过氧化物酶的活力可用其酶促反应的速度来表示，测定此酶促反应中还原型谷胱甘肽(GSH)的消耗，则可求出酶的活力。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 1mL×1 瓶	液体 2mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一的配制： 用时取0.1mL加蒸馏水至10mL，等同于100倍稀释配成应用液，现用现配。			
试剂二	液体 60mL×1 瓶	液体 120mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂三	液体 40mL×1 瓶	液体 80mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂四	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品(GSH)	粉剂 3.07mg ×1 支	粉剂 3.07mg ×2 支	2~8℃保存
10mmol/L GSH 溶液	每支GSH标准品粉剂加入双蒸水1mL，充分溶解，现用现配。		

1mmol/L GSH 溶液	取 10mmol/L GSH 溶液用试剂二 10 倍稀释，充分混匀，现用现配。
----------------	---

四、操作步骤：

样本前处理

- 组织：按照组织质量(g):提取液(mL)为1:10的比例(建议称取0.1g组织，加入1mL提取液)进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4℃离心10 min，取上清置冰上待测；
- 细菌/细胞：按照细胞数量(10⁴个):提取液体积(mL)为500~1000:1的比例(建议500万细胞加入1mL提取液)，冰浴超声波破碎细胞(功率200W, 超声3秒, 间隔7秒, 总时间5min)；然后10000g, 4℃离心10min，取上清置于冰上待测；
- 血清(浆)等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

- 分光光度计预热30min以上，调节波长至405nm，蒸馏水调零。
- 试剂回复至常温；
- 将1mmol/L标准品用试剂三依次稀释至0、20、40、60、80、100nmol/mL，备用；

4、操作表：

(1) 酶促反应：

试剂名称	测定管	对照管
1mmol/L GSH 标准液(μL)	100	100
样本(μL)	50	-
充分混匀，试剂一 37℃ 预温 5min		
试剂一(μL)	50	50
充分混匀，37℃准确反应 10min		
试剂二(μL)	1000	1000

样本 (μL)	-	50
充分混匀, 4000rpm/min 离心 10min, 取上清液进行显色反应。		

(2) 显色反应:

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
不同浓度 GSH 标准液(μL)	-	-	-	500
试剂二 (μL)	-	-	500	-
上清液 (μL)	500	500	-	-
试剂三 (μL)	500	500	500	500
试剂四 (μL)	125	125	125	125

混匀, 空白管调零, 于波长 405nm 测定各管吸光度, 分别记为 $A_{\text{测定}}$, $A_{\text{对照}}$, $A_{\text{空白}}$, $A_{\text{标准}}$, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注意:每个样本需设一个对照, 空白管和标准管只需做 1-2 个。

五、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX/GPX)活性计算:

1、标准曲线绘制: 以吸光度值为横坐标, 标准品浓度为纵坐标, 绘制标准曲线 $y = kx + b$, x 为吸光度值, y 为标准品浓度浓度(nmol/mL)。

根据标准曲线, 将 ΔA 带入公式计算出样本浓度 (y , nmol/mL) ;

2、血清样本 GSH-PX/GPX 计算

单位定义: 每毫升血清每分钟消耗 1nmol GSH 的量为一个酶活力单位。

计算公式: $\text{GPX (U/mL)} = y \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 24 \times y$

3、组织、细胞样本 GSH-PX/GPX 计算

(1) 按样本质量计算:

单位定义: 每克组织每分钟消耗 1nmol GSH 的量为一个酶活力单位。

计算公式: $\text{GPX (U/g)} = y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 24 \times y \div W$

(2) 按蛋白浓度计算:

单位定义: 每毫克蛋白每分钟消耗 1nmol GSH 的量为一个酶活力单位。

计算公式: $\text{GPX (U/mg prot)} = y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 24 \times y \div Cpr$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液总体积, 1mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 50μL=0.05mL;

$V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 1.2mL; T: 反应时间, 5min; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

六、注意事项:

1、不同样本 GPX 活性差异较大, 选择部分样本进行预实验。根据预实验结果, 样本稀释或者加大取样量, 计算公式根据实际情况进行修改;

2、试剂一需现用现配;

3、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日