

## 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		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（H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>）与还原型谷胱甘肽(GSH)反应生成 H<sub>2</sub>O 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

- 1、组织：按照组织质量（g）:提取液(mL)为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测；
- 2、细菌/细胞：按照细胞数量(10<sup>4</sup> 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；
- 3、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

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零。
- 2、试剂回复至常温；
- 3、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 (nmol/mL)。

根据标准曲线, 将  $\Delta A$  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:**  $GPX (U/mL) = y \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 24 \times y$

## 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:**  $GPX (U/g) = y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 24 \times y \div W$

(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:**  $GPX (U/mg \text{ prot}) = y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 24 \times y \div Cpr$

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

$V_{\text{反应}}$ : 反应总体积, 1.2mL;  $T$ : 反应时间, 5min;  $Cpr$ : 样本蛋白质浓度, 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