

## 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)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-M48	谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX)活性检测试剂盒	48T	微量法
AMHB6-M96		96T	

### 一、测定意义：

谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）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的活性中心是硒半胱氨酸，硒是 GSH-PX 的必需部分，每克分子酶含4克原子硒。测定GSH-PX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）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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	液体120mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体1ml×1瓶	液体2ml ×1 瓶	2-8℃保存
试剂二应用液：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15mL×1瓶	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体3mL×1瓶	液体 6mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品（GSH）	粉剂×1支	粉剂×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）500~1000:1的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。
- 3、血清（浆）等液体：直接测定，若浑浊离心取上清。

#### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 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	对照管	测定管
1mmol/L GSH标准液（μL）	50	50
样本（μL）	-	25
充分混匀，试剂二37℃ 预温5min		
试剂一（μL）	25	25
充分混匀，37℃准确反应10min		
试剂二（μL）	500	500
样本（μL）	25	-
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	对照管	测定管	空白管	标准管
GSH标准液（μL）	-	-	-	100
试剂二（μL）	-	-	100	-
上清液（μL）	100	100	-	-
试剂三（μL）	100	100	100	100
试剂四（μL）	25	25	25	25
混匀，空白管调零，于波长405nm测定各管吸光度。 计算 $\Delta A = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$				

## 五、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)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（μg/mL）。根据标准曲线，将 $\Delta A$ 带入公式计算出样本浓度（y，μg/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：** $GPX = y \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 2.4 \times y$

### 3、组织、细胞样本GSH-PX/GPX计算

#### 1) 按照样本鲜重计算

**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：** $GPX = y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 2.4 \times y \div W$

#### 2) 按照样本蛋白浓度计算

**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：** $GPX = y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 2.4 \times y \div C_{\text{pr}}$

$V_{\text{反应}}$ ：反应总体积 0.6mL； $V_{\text{样}}$ ：样本取样量 0.025mL； $V_{\text{样总}}$ ：提取液体积 1mL； $C_{\text{pr}}$ ：蛋白浓度 mg/mL；T：反应时间 10min；W：重量，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。测定上清液当天提取，当天测试。

### 【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