

## 谷胱甘肽过氧化物酶(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 |
|-----------|--------------|------|------|
| PYHA7-C24 | 谷胱甘肽过氧化物酶    | 24T  | 常量法  |
| PYHA7-C48 | (GPX)活性检测试剂盒 | 48T  |      |

### 一、测定意义：

谷胱甘肽过氧化物酶（GPX）是抗氧化防御系统的关键酶，测定其活性可精准反映植物在逆境胁迫下的抗氧化能力，酶活性变化是植物启动逆境适应机制的重要生理标志，为评估植株抗逆潜力提供核心指标。同时，该酶活性还与植物生长发育及代谢稳态密切相关，其测定结果也是解析植物抗氧化调控网络、筛选高抗逆性品种的重要依据，对植物生理机制研究与抗逆栽培实践具有重要价值。

### 二、测定原理：

谷胱甘肽过氧化物酶（GPX）可以促进过氧化氢（ $H_2O_2$ ）与还原型谷胱甘肽（GSH）反应生成  $H_2O$  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 |
| <b>试剂一的配制：</b> 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<br>(3.07mg)  | 粉剂×1 支      | 粉剂×2 支       | 2-8℃保存 |
| <b>标准液的配制：</b> 每支 GSH 标准品粉剂加入双蒸水 1ml，充分溶解得到 10mmol/L GSH 标准溶液；将 10mmol/L GSH 标准溶液用 <b>试剂二</b> 10 倍稀释，充分混匀得到 1mmol/L GSH 标准溶液，现用现配。 |             |              |        |

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

#### 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；
- 测定前将试剂恢复至常温；
- 将 1mmol/L 标准品用**试剂三**依次稀释至 0、20、40、60、80、100nmol/mL，备用；
- 操作表：

(1) 酶促反应（在离心管中加入以下试剂）：

| 试剂名称                                  | 测定管  | 对照管  |
|---------------------------------------|------|------|
| 1mmol/L GSH 标准液（ $\mu$ L）             | 100  | 100  |
| 样本（ $\mu$ L）                          | 50   | -    |
| 充分混匀，试剂一 37℃ 预温 5min                  |      |      |
| 试剂一（ $\mu$ L）                         | 50   | 50   |
| 充分混匀，37℃ 准确反应 10min                   |      |      |
| 试剂二（ $\mu$ L）                         | 1000 | 1000 |
| 样本（ $\mu$ L）                          | -    | 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：（在玻璃比色皿中加入以下试剂）：

| 试剂名称              | 测定管 | 对照管 | 空白管 | 标准管 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|
| 不同浓度标准液（ $\mu$ L） | -   | -   | -   | 500 |
| 试剂二（ $\mu$ L）     | -   | -   | 500 | -   |
| 上清液（ $\mu$ L）     | 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，记为 A <sub>测定</sub> ，A <sub>对照</sub> ，A <sub>标准</sub> ，A <sub>空白</sub> ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{对照} - A_{测定}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。注意：标准管和空白管只需做 1-2 次。 |     |     |     |     |

## 五、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性测定：

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  $\Delta A_{测定}$  带入公式计算出样本浓度 (y, nmol/mL)；

2、按样本蛋白浓度计算

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

2、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：**  $GPX(U/g \text{ 鲜重}) = y \times V_{反总} \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T = 24 \times y \div W$

$V_{反总}$ ：反应总体积 1.2mL； $V_{样}$ ：样本取样量 0.05mL； $V_{样总}$ ：提取液体积 1mL； $Cpr$ ：蛋白浓度 mg/mL；T：反应时间 10min。

## 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、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

## 【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