

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-M48	谷胱甘肽过氧化物酶	48T	微量法
PYHA7-M96	(GPX)活性检测试剂盒	96T	

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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×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 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 (3.07mg)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃保存
标准液的配制： 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 试剂二 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

- 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（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（ μ L）	50	50
样本（ μ L）	25	-
充分混匀，试剂一 37℃ 预温 5min		
试剂一（ μ L）	25	25
充分混匀，37℃ 准确反应 10min		
试剂二（ μ L）	500	500
样本（ μ L）	-	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：（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（ μ L）	-	-	-	100
试剂二（ μ L）	-	-	100	-
上清液（ μ L）	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，记为 A _{测定} ，A _{对照} ，A _{标准} ，A _{空白} ，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 0.6mL； $V_{样}$ ：样本取样量 0.025mL； $V_{样总}$ ：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