

## 谷胱甘肽过氧化物酶（GPX）活性检测试剂盒（微量法）

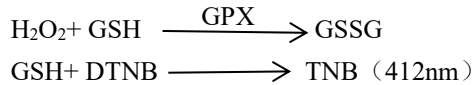
产品货号：BA1116

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase, GSH-Px或GPX, EC.1.11.1.9）是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶。GPX能够催化还原型谷胱甘肽（GSH）生成氧化型谷胱甘肽（GSSG），使有毒的过氧化氢还原成无毒的羟基化合物。

GPX催化H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>氧化GSH，产生GSSG，GSH能与DTNB生成在412nm处有特征吸收峰的化合物，412nm下吸光度的下降即可反应GPX的活性。



注意：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。

### 产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂二	液体10μL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂五	液体5mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃
稀释液	液体4mL×1瓶	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加入1.65mL蒸馏水溶解，2-8℃可保存2周；
2. 试剂一工作液：临用前根据样本数量按照试剂一：稀释液=1:1的比例进行配制，现用现配；
3. 试剂二工作液：临用前按2μL试剂二：10mL蒸馏水的比例稀释试剂二，现用现配；
4. 试剂三：瓶底若有结晶可50℃水浴溶解，此溶液为饱和溶液，若底部最终还有结晶，吸取上清使用即可；
5. 标准品：10mg还原型谷胱甘肽。临用前加入0.405mL蒸馏水溶解为80μmol/mL的标准溶液备用，2-8℃可保存4周。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、天平、台式离心机、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器/超声破碎仪、EP管。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取0.05g组织，加入1mL提取液）进



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

行冰浴匀浆。5000rpm, 4°C离心10min, 取上清置冰上待测(如上清不清澈可以离心更长时间)。

2. 细菌、细胞: 按照细胞数量 $10^4$ 个: 提取液体积 (mL) 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300w, 超声3s, 间隔7s, 总时间3min) 然后5000rpm, 4°C, 离心10min, 取上清置冰上待测(如上清不清澈可以离心更长时间)。
3. 血清(浆)等液体: 直接测定。

## 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上, 调节波长至412nm, 蒸馏水调零。
2. 将80 $\mu$ mol/mL标准液用蒸馏水稀释为0.08 $\mu$ mol/mL的标准溶液, 现用现配。(可取10 $\mu$ L 80 $\mu$ mol/mL标准液和990 $\mu$ L蒸馏水混合配成0.8 $\mu$ mol/mL的标准溶液, 再取100 $\mu$ L 0.8 $\mu$ mol/mL的标准溶液和900 $\mu$ L蒸馏水混合配成0.08 $\mu$ mol/mL的标准溶液)
3. 操作表: (1.5mL离心管中依次加入下列试剂):

	测定管	对照管
样本上清液 ( $\mu$ L)	20	-
试剂一工作液 ( $\mu$ L)	20	20
37°C下预热5min		
试剂二工作液 ( $\mu$ L)	10	10
37°C下反应5min		
试剂三 ( $\mu$ L)	200	200
样本上清液 ( $\mu$ L)	-	20
充分混匀, 4000rpm常温离心5min, 取上清于EP管或者96孔板中。		

试剂名称 ( $\mu$ L)	测定管	对照管	标准管	空白管
蒸馏水	-	-	-	100
上清液	100	100	-	-
标准液	-	-	100	-
试剂四	100	100	100	100
试剂五	25	25	25	25
充分混匀, 室温静置15min, 测定412nm下的吸光度, 分别记为A测定管、A对照管、A标准管、A空白管。计算 $\Delta A_{测定} = A_{对照管} - A_{测定管}$ , $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。空白管和标准管仅需做1-2次。				

## 三: GPX活性计算

### 1. 抑制百分率的计算

$$\text{抑制百分率} = (A_{\text{对照管}} - A_{\text{测定管}}) \div (A_{\text{对照管}} - A_{\text{空白管}}) \times 100\%$$

尽量使样品的抑制百分率在30-70%范围内, 越靠近50%越准确。如果计算出来的抑制百分率小于30%或大于70%, 则通常需要调整加样量后重新测定。如果测定出来的抑制百分率偏高, 则需适当稀释样本; 如果测定出来的抑制百分率偏低, 则需重新准备浓度比较高的待测样本。

### 2. GPX活性计算

#### (1) 按蛋白浓度计算

活力单位定义: 每mg蛋白在反应体系中每分钟催化1nmol GSH氧化定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GPX (U/mg prot)} &= \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 200 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

(2) 按样本质量计算

活力单位定义：每g样本在反应体系中每分钟催化1nmol GSH氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPX (U/g 质量)} = \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ = 200 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

(3) 按细胞数量计算

活力单位定义：每 $10^4$ 个细胞在反应体系中每分钟催化1nmol GSH氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPX (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 200 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{细胞数量}$$

(4) 按液体体积计算

活力单位定义：每mL液体在反应体系中每分钟催化1nmol GSH氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPX (U/mL)} = \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div V_{\text{样}} \div T \\ = 200 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$$

C标：标准液混合物的浓度：0.08 $\mu\text{mol/mL}$ ；V酶促：酶促反应体系体积，0.25mL；V样：酶促反应中加入的样本体积，0.02mL；V样总：提取液体积，1mL；Cpr：上清液蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，5min；细胞数量：以万计；W：样品质量，g；1000：换算系数，1 $\mu\text{mol}$ =1000nmol。

**注意事项：**

1. 吸光度若大于1.5时，建议将样本用提取液稀释后进行测定。
2. 建议一次不要做过多样本以免检测时间过长影响显色，使测定不准确。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>