

谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)检测试剂盒(比色法)

产品货号: BA1824

产品规格: 50T/100T

产品简介:

谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione Peroxidase, GSH-Px)是一种含硒的水溶性四聚体蛋白酶。几乎在所有组织中都有分布,在一些病理状况下谷胱甘肽过氧化物酶的活力会发生明显的变化,该酶可以清除活细胞内过氧化物,在保护细胞免受自由基损伤过程中起着关键作用。细胞内的脂类容易和自由基发生反应,产生脂类过氧化物。谷胱甘肽过氧化物酶不仅具有消除自由基和衍生物的作用,还与过氧化氢酶(CAT)、磷脂氢过氧化物谷胱甘肽过氧化物酶(PH-GSH-Px)、谷胱甘肽 S 转移酶(GST)构成不同基质特异性的多水平的还原有机氢过氧化物系统,减少脂质过氧化物的形成,增强机体抗氧化损伤能力。

谷胱甘肽过氧化物酶检测试剂盒(Glutathione Peroxidase AssayKit)是一种以过氧化氢为底物,通过比色法检测细胞、组织或其它样品中谷胱甘肽过氧化物酶活性的试剂盒。绝大部分细胞内的谷胱甘肽过氧化物酶都是含硒的,且硒为该酶的活性中性组成部分。细胞内也有少量不含硒的谷胱甘肽过氧化物酶存在。本试剂盒检测的是最常见的含硒的谷胱甘肽过氧化物酶,该检测法的缺点谷胱甘肽过氧化物酶可以利用还原型谷胱甘肽(GSH)催化过氧化氢以及许多有机过氧化物,产生水或有机醇,在特殊情况下会影响检测准确性。硒是 GSH-Px 的必须组成部分,每分子该酶含有含有四分分子硒,该酶的活性中心是硒半胱氨酸,测定该酶的活力可以衡量有机体硒水平。其检测原理是:GSH-Px 可催化谷胱甘肽(GSH)与苯甲酸显色液发生氧化反应,使之生成黄色阴离子,通过分光光度计或酶标仪检测 422nm 处吸光度值测定该阴离子的浓度,间接推算 GSH 减少的量。本试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

产品名称	50T	100T	保存条件
试剂(A): 样品匀浆液	50ml	100ml	室温
试剂(B): GSH	15.4mg	30.8mg	-20℃, 避光
试剂(C): GSH 配制液	10ml	20ml	2-8℃
试剂(D): 氧化剂	2×1ml	2×1ml	室温
试剂(E): 酸性沉淀液	100ml	200ml	室温
试剂(F): GSH-Px assay buffer	62.5ml	125ml	室温
试剂(G): 苯甲酸显色液	15ml	30ml	-20℃, 避光
试剂(H): ddH ₂ O	50ml	100ml	-20℃, 避光

自备材料:

1. 生理盐水或 PBS
2. 离心管、小试管或 96 孔板
3. 分光光度计或酶标仪
4. 水浴锅或恒温箱
5. 离心机



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

操作步骤(仅供参考):
1. 样本处理:

a.血清、血浆样本: 从待测样本中分离出的血清或血浆不应有溶血, 如果含有应去除红细胞后, 直接检测, 如超过检测范围, 用生理盐水稀释后检测。血清去除红细胞的简易方法如下:

用抗凝管收集血液, 颠倒混匀。取至少 500ul 全血, 4℃ 3000g 离心 5min。弃上清, 用冰冷的红细胞沉淀 10 倍体积的样品匀浆液重悬沉淀, 再同前离心, 弃上清。加入约红细胞沉淀 4 倍体积的冰冷的 ddH₂O 裂解红细胞。12000g 离心 5min, 取上清。亦可采用红细胞裂解液去除红细胞, 如 ACK 红细胞裂解液等。

b.组织样本: 动物用含有 20U/ml heparin 的生理盐水(0.9%NaCl containing 20U/ml heparin)灌流清除血液后获取组织样品。按照每 20mg 组织加入 200ul 样品匀浆液的比例, 用玻璃匀浆器在 4℃或冰浴匀浆。4℃, 12000g 离心 10min。取上清用于酶活性的测定。

c.细胞样本: 对于贴壁细胞, 由于后续用于酶活性的测定, 避免使用胰酶消化细胞。可以使用用细胞刮或 EDTA 处理细胞收集细胞。细胞用无菌的 PBS 或生理盐水洗涤 1 次。按照每 10⁶ 细胞加入 300-500ul 匀浆液的比例用玻璃匀浆器在 4℃或冰浴匀浆, 4℃12000g 离心 10min, 取上清用于酶活性的测定。亦可采用 Western 及 IP 细胞裂解液参考相应说明裂解细胞样品, 按照每 10⁶ 细胞加入 100-200ul 裂解液的比例进行裂解, 取上清用于酶活性的测定。

2. GSH 工作液的配制: 取 0.5ml ddH₂O 加入 15.4mgGSH 或 1.0ml ddH₂O 加入 30.8mg GSH 中, 充分溶解开混匀, 即获得 GSH 储存液(100mmol/L), 立即分装后-20℃保存。取适量的 GSH 储存液(100mmol/L), 按 GSH 配制液: GSH 储存液(100mmol/L)=99:1 的比例稀释至 1mmol/L, 即为 GSH 工作液(1mmol/L), 该溶液配制好以后可 4℃保存 1 天。

3. 氧化工作液的配制: 准确取氧化剂 0.1ml 加入 6.5ml ddH₂O, 即为氧化储存液(100×), 4℃保存。临用前, 准确取氧化储存液(100×)0.1ml 加入 10ml ddH₂O, 即为氧化工作液, 4℃保存, 1 天有效。

4. GSH-Px 酶促反应: 可参考下表设置检测反应体系, 依次加入试剂:

加入物质	空白对照管	本底对照管	测定管
GSH 工作液 (1mmol/L)	-	0.2ml	0.2ml
待测样品	-	-	0.2ml
ddH ₂ O	0.2ml	0.2ml	-
混匀, 置于 37℃水浴 5min			
氧化工作液 (提前 37℃预温)	-	0.1ml	0.1ml
混匀, 置于 37℃水浴 5min			
酸性沉淀剂	0.8ml	2ml	2ml
3500g 离心 10min			
取上清液	-	1ml	1ml

5. GSH-Px 显色反应: 可参考下表设置检测反应体系, 依次加入试剂:

加入物质	空白对照管	本底对照管	测定管
取上清液	-	1ml	1ml
空白对照	1ml	-	-
GSH 检测缓冲液	1.25ml	1.25ml	1.25ml
苯甲酸显色液	0.25ml	0.25ml	0.25ml

②混匀, 置于室温孵育 1min。以 ddH₂O 调零, 用分光光度计或酶标仪检测 422nm 处吸光度值, 定义为 A 空白、A 本底、A 测定。如果用分光光度计, 比色杯光径应为 1cm 加入的上清量因根据比色杯的最小量程而定; 如果用酶标仪, 96 孔板每孔应加 250ul 上清液。



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>

计算:

谷胱甘肽过氧化物酶活力单位的定义: 1 个酶活力单位(lunit)是指在 37℃, 每 1L 血清, 排除非酶促反应, 1min 内可以催化 1umo/LGSH 氧化所需(减少)的酶量为一个 GSH-Px 活性单位。

$$\text{GSH-Px(U/L)} = (\text{A 本底} - \text{A 测定} - \text{A 空白}) / (\text{A 本底} - \text{A 空白}) \times 200$$

注: a、[检测体系中谷胱甘肽过氧化物酶活力的单位为 U/L=mU/ml。

b、[样品(如组织样本)中谷胱甘肽过氧化物酶活力 1=[检测体系中谷胱甘肽过氧化物酶活力]×稀释倍数/样品中的蛋白浓度]

[样品中(如组织样本)谷胱甘肽过氧化物酶活力]的单位为:U/mg 或 mU/mg 蛋白样品中的蛋白浓度 1 的单位为:mg/ml。

c、计算示例: 样品的蛋白浓度经测定为 05mg/ml, 稀释 2 倍后进行测定。如果 A 本底=030, A 测定=0.20, A 空白=0.003 那么:

$$\text{检测体系中谷胱甘肽过氧化物酶活力} = (0.30 - 0.02 - 0.003) / (0.30 - 0.003) \times 200 \times 2 = 130.6 \text{U/L}$$

$$\text{样品中谷胱甘肽过氧化物酶活力} = 130.6 \text{U/L} \times 2 / (0.5 \text{mg/ml}) = 522.4 \text{mU/mg(蛋白)}$$

式中: A 空白=空白对照的吸光度值

A 本底=本底对照的吸光度值

A 测定=待测样品的吸光度值



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>