

# 谷胱甘肽过氧化物酶（GPX）活性检测试剂盒 （可见分光光度法）

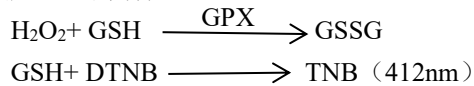
产品货号：BA1115

产品规格：50管/24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30mL×1瓶 | 2-8°C |
| 试剂一  | 粉剂×2瓶     | 2-8°C |
| 试剂二  | 液体10μL×1瓶 | 2-8°C |
| 试剂三  | 液体60mL×1瓶 | 2-8°C |
| 试剂四  | 液体30mL×1瓶 | 2-8°C |
| 试剂五  | 液体10mL×1瓶 | 2-8°C |
| 标准品  | 粉剂×1支     | 2-8°C |
| 稀释液  | 液体20mL×1瓶 | 2-8°C |

## 溶液的配制：

1. 试剂一：临用前取一瓶加入3.3mL稀释液，充分溶解；2-8°C可保存2周；
2. 试剂二：液体放于试剂瓶内EP管中，使用前先离心。临用前按2μL试剂二：10mL蒸馏水的比例稀释试剂二，现用现配；
3. 试剂三：瓶底若有结晶可50°C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；
4. 标准品：10mg还原型谷胱甘肽。临用前加入0.405mL稀释液溶解为80μmol/mL的标准溶液备用；2-8°C可保存4周。

## 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、天平、台式离心机、1mL玻璃比色皿、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）



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

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）进行冰浴匀浆。5000rpm，4℃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℃，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标准液用稀释液稀释为0.08 $\mu$ mol/mL的标准溶液，现用现配。
3. 操作表：

(1) 酶促反应（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）                        | 100  | -    |
| 试剂一（ $\mu$ L）                          | 100  | 100  |
| 37℃下预热5min                             |      |      |
| 试剂二（ $\mu$ L）                          | 50   | 50   |
| 37℃下反应5min                             |      |      |
| 试剂三（ $\mu$ L）                          | 1000 | 1000 |
| 样本上清液（ $\mu$ L）                        | -    | 100  |
| 充分混匀，4000rpm常温离心10min，取上清于新的1.5mLEP管中。 |      |      |

(2) 显色反应：

| 试剂名称（ $\mu$ L）  | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 |
|---|-----|-----|-----|-----|
| 稀释液   | -   | -   | -   | 500 |
| 上清液   | 500 | 500 | -   | -   |
| 标准液   | -   | -   | 500 | -   |
| 试剂四   | 500 | 500 | 500 | 500 |
| 试剂五   | 125 | 125 | 125 | 125 |
| 充分混匀，室温静置15min。尽快测定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，1.25mL；V样：酶促反应中加入的样本体积，0.1mL；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1.2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>