

谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)试剂盒

- 【产品简介】** ◆谷胱甘肽过氧化物酶(GPx, EC1.11.1.9)代表一种具有过氧化物酶活性的酶家族,在保护生物免受氧化损伤中起重要作用。以往以过氧化氢为底物进行检测,则会受到分解过氧化氢的过氧化氢酶(Catalase)的干扰,本试剂盒提供的有机过氧化物试剂(Cum-OOH)不会被过氧化氢酶分解,因而可以特异地检测出谷胱甘肽过氧化物酶的活力。因此本试剂盒可以定量检测总谷胱甘肽过氧化物酶。
- ◆GSH和DTNB反应产生黄色物质,后者在412nm下有最大吸收峰,而GSH-Px催化有机过氧化物试剂(Cum-OOH)氧化GSH,使GSH量减少,GSH量减少越多,反应混合液黄色越浅,则GSH-Px活性越大;反之,黄色越深,GSH-Px活性越低。

【货号】 TC1010

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	100mL×1瓶	4℃	
试剂一	8mL×1瓶	4℃	
试剂二	4mL×1瓶	4℃	
标准三	80mL×1瓶	4℃	
试剂四	10mL×1瓶	4℃	
试剂五	2mL×1瓶	4℃	若冷藏后呈固体,可25℃水浴5min融化即可。
标准品	粉体mg×1支	4℃	若重新做标曲,则用到该试剂。

【保存条件】 4℃保存,有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备：

①组织样本：称取约 0.1g组织(水分充足样本可取 0.5g)，加入1mL提取液，在 4℃或冰浴匀浆(或使用各类常见电动匀浆器)。4℃x12000rpm 离心 10min，取上清待测。

注：若增加样本量，可按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为1:5~10 的比例进行提取。样本应在冰上待测，建议提取当天完成检测。

②细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500万细菌或细胞加入1mL提取液，在4℃或冰浴进行匀浆(或使用各类常见电动匀浆器)。4℃约12,000rpm 离心 10min，取上清待测。

注：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10)：提取液(mL)为 500~1000:1的比例进行提取。

③液体样本：直接测定。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

①可见分光光度计预热30 min，调节波长到 412 nm，蒸馏水调零。

②试剂一到五在25℃水浴中预热 30min，在EP管中依次加入：

试剂名称(uL)	测定管	空白管(做一次)
试剂一	80	80
样本	80	
蒸馏水		80
试剂二	40	40
25℃条件下反应5min(严格控制时间)		
试剂三	800	800
12000rpm 离心10min, 上清液待测。		

③显色反应：在96孔板依次加入：

试剂名称(uL)	测定管	空白管(做一次)
上述步骤的上清液	80	80
试剂四	100	100
试剂五	20	20
反应2min后，于412nm 处读吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{空白管}} - A_{\text{测定管}}$ 。		

④标准曲线结果计算①由标准品测定获得，如需重制见随货说明书或咨询。

结果计算：

①标准曲线： $y = 3.6568x - 0.0103$ ，x是GSH摩尔浓度： $\mu\text{mol/mL}$ ，y为吸光值

②、按蛋白浓度计算：

酶活定义：在 25℃反应条件下，每毫克蛋白每分钟氧化 1nmol GSH 为 1 个酶活单位。

GPx 酶活 (nmol/min/mg prot)

$$= [((\Delta A + 0.0103) \div 3.6568 \times 10^3 \times V_2) \div (C_{pr} \times V_1) \div T \times D] = 683.7 \times (\Delta A + 0.0103) \div C_{pr} \times D$$

3、按样本质量计算：

酶活定义：在 25℃反应条件下，每克样本每分钟氧化 1nmol GSH 为 1 个酶活单位。

GPx 酶活 (nmol/min/g 鲜重)

$$= [((\Delta A + 0.0103) \div 3.6568 \times 10^3 \times V_2) \div (W \times V_1 \div V) \div T \times D] = 683.7 \times (\Delta A + 0.0103) \div W \times D$$

4、按细胞数量计算：

酶活定义：在 25℃反应条件下，每 10⁴个细胞每分钟氧化 1nmol GSH 为 1 个酶活单位。

GPx 酶活 (nmol/min/10⁴cell)

$$= [((\Delta A + 0.0103) \div 3.6568 \times 10^3 \times V_2) \div (500 \times V_1 \div V) \div T \times D] = 683.7 \times (\Delta A + 0.0103) \div 500 \times D$$

5、按液体体积计算：

活性单位定义：在 25℃反应条件下，每毫升液体每分钟氧化 1nmol GSH 为 1 个酶活单位。

GPx 酶活 (nmol/min/mL)=

$$[(\Delta A + 0.0103) \div 3.6568 \times 10^3 \times V_2) \div V_1 \div T \times D] = 683.7 \times (\Delta A + 0.0103) \times D$$

V--加入提取液体积，1mL； V₁--反应中样品体积，80uL=0.08 mL；

V₂--反应阶段的反应总体积，1000uL=1mL； D--稀释倍数，未稀释即为 1；

W--样本质量，g； GSH分子量-307.3；

T--反应时间，5min； 500--细菌/细胞数量，万；

C_{pr}--上清液蛋白浓度(mg/mL)

- 【注意事项】**
- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
 - 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。