谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px/GPX）活性检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1.使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本上清进行预检测。

3.本试剂盒仅用于科研。

4.因本实验反应迅速，可将样品上清分批（每批 6~8 个样品）进行检测。

5.为保证实验准确性，预热混合试剂预热 30 min 后，尽量将其保温在 25℃或 37℃（哺乳动物 37℃）条件下。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	120 mL×1	4℃	
试剂二	粉剂×2	-20℃	
试剂三	10 μL×2	-20℃	
试剂四	200 μL	4℃	

1. 混合试剂配制：临用前，取试剂二 1 瓶，加入试剂一 10 mL，充分震荡溶解后，取少量混合液于一瓶试剂三中，充分混匀后再转移回试剂二中，混匀待用。（现配现用）

2. 混合试剂在 25℃或者 37℃（哺乳动物 37℃）水浴中预热 30 min。

3. 试剂四的稀释：吸取 21.5 μL 试剂四，加入 5 mL 蒸馏水充分混匀，临用前配制。（现配现用）

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1.血清、血浆、培养液等液体样品直接检测。

2、组织样品

按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约

0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）进行冰浴匀浆，然后 10000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清液为待测样本。

3、细胞样品

按照细胞数量（10^4个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次）；10000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清液为待测样本。

五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 340 nm 处。

2. 在 96 孔板中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管
样本（μL）	20
预热后的混合试剂（μL）	160
稀释后的试剂四（μL）	20
迅速混匀后，于 340 nm 处测定第 30 s 和第 210 s 的吸光值，分别记为 A1 和 A2。ΔA 测定管= A1 - A2。	

六、计算：

计算公式如下

（1）按蛋白浓度计算（需另测蛋白浓度）

谷胱甘肽过氧化物酶活力单位定义：一定温度中，每 mg 蛋白每分钟催化 1 nmol NADPH 氧化为 1 个酶活单位。

谷胱甘肽过氧化物酶 （**nmol/min/mg prot**）=[ΔA÷ε÷d×V 反总×10^9]÷（Cpr×V 样）÷T=893.33×ΔA÷Cpr

（2）按样本质量计算

谷胱甘肽过氧化物酶活力单位定义：一定温度中，每 g 样本每分钟催化 1 nmol NADPH 氧化为 1 个酶活单位。

谷胱甘肽过氧化物酶 **(nmol/min/g** 鲜重**)**=[ΔA÷ε÷d×V 反总×10^9]÷（W×V 样÷V 样总）÷T=893.33×ΔA÷W

（3）按细胞数量计算

活性单位定义：一定温度中，每 10^4个细胞每分钟催化 1 nmol NADPH 氧化为 1 个酶活单位。

谷胱甘肽过氧化物酶 **(nmol/min/10^4 cell**）=[ΔA÷ε÷d×V 反总×10^9]÷（细胞数量×V 样÷V 样总）÷T=893.33×ΔA÷细胞数量

（4）按液体体积计算

活性单位定义：一定温度中，每毫升液体每分钟催化 1 nmol NADPH 氧化为 1 个酶活单位。

谷胱甘肽过氧化物酶（**nmol/min/mL**）=[ΔA÷ε÷d×V反总×10^9]÷V样÷T=893.33×ΔA

ε：NADPH 摩尔消光系数 6.22×10^3L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.6 cm；V 反总：反应体系总体积，200 μL=2×10 $^{-4}$ L；10^6：1 mol=1×10^6μmol；Cpr：上清液蛋白浓度（mg/mL）；W：样品质量；V 样：加入反应体系中上清液体积，20 μL=2×10 $^{-2}$ mL；V 样总：提取液体积，1 mL；T：反应时间，3 min。

八、产品简介

谷胱甘肽过氧化物酶是谷胱甘肽氧化还原循环中催化还原型谷胱甘肽（GSH）氧化的主要酶之一。谷胱甘肽过氧化物酶不仅能够特异地催化还原型谷胱甘肽与 ROS 反应，生成氧化型谷胱甘肽 GSSG，从而保护生物膜免受 ROS 的损害，维持细胞的正常功能；而且具有保护肝脏、提高机体免疫力、拮抗有害金属离子对机体的伤害和增加机体抗辐射等能力。