

谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 测定试剂盒 (比色法)

50管/24样 WLA107a 100管/48样 WLA107b

仅用于科学研究,不能用于诊断

Wanleibio



产品信息

产品名称 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 测定试剂盒 (比色法)

产品概述 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶, 它特异地催化还原型谷胱甘肽 (GSH) 对氢过氧化物的还原反应。一般认为它在细胞内能清除有害的过氧化物代谢产物, 阻断脂质过氧化链锁反应, 从而起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。此酶含硒, 硒是GSH-PX的必要组成部分。每克分子酶含4g原子硒。GSH-PX的活性中心是硒半胱氨酸。测定GSH-PX活力可以作为衡量机体硒水平的一项生化指标。本试剂盒具有操作简便、稳定性好等优点, 可测定动物血液、组织、培养细胞、细菌、植物组织等, 效果均佳。

包装信息

试剂盒组分	WLA107a (50T)	WLA107b (100T)	保存条件
试剂一贮备液	1ml	2ml	4°C, 避光
甲粉	1瓶	1瓶	4°C
乙液	25ml	50ml	4°C
试剂三	1瓶	1瓶	避光, 4°C
试剂四	1支	1支	避光, 4°C
试剂五	2支	4支	避光, 4°C
GSH标准品粉剂	1支	1支	4°C
GSH标准品溶剂贮备液	10ml	20ml	4°C

操作流程

一、试剂配制:

试剂一应用液: 用时取0.1ml加双蒸水至10ml, 现用现配, 需多少配多少, 4°C保存。

试剂二: 先向甲粉试剂中加入90-100°C的热双蒸水 (50T 加入85ml; 100T 加入170ml), 充分完全溶解。然后将已配好的甲液与乙液充分混合。此为过饱和溶液, 室温静置冷却后, 如有结晶, 则取上清进行实验, 4°C或室温保存6个月。

试剂三应用液: 用时加双蒸水进行溶解 (50T 加入100ml; 100T 加入200ml), 避光4°C保存6个月。

试剂四应用液: 用时加双蒸水50ml进行溶解, 避光4°C保存6个月。

试剂五应用液: 用时每支加双蒸水10ml溶解, 避光4°C可保存5天。

GSH标准品溶剂应用液: 按GSH标准品溶剂贮备液: 双蒸水=1:9 即10倍稀释配成应用液, 现用现配, 4°C保存。

10mmol/L GSH标准品溶液的配制: GSH的分子量为307, 每次测定前将10mg的GSH标准品加入到3.25ml的GSH标准品溶剂应用液中, 混匀, 现用现配。

1mmol/L标准品溶液的配制: 取10mmol/L GSH标准品溶液1ml加入GSH标准品溶剂应用液9ml, 现用现配。

20μmol/L GSH标准品溶液: 取10mmol/L GSH标准品溶液0.02ml加入GSH标准品溶剂应用液9.98ml, 现用现配。

二、样本前处理。

a. 血清 (浆): 直接取原液进行检测。

b. 全血: 取肝素抗凝全血20μl, 加双蒸水稀释至1ml, 配成1:49的溶血液, 充分混匀直至透亮为止。

c. 组织: 准确称取组织重量, 按重量 (g): 体积 (ml) = 1:9的比例, 加入9倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500rpm离心10min, 取上清液进行测定。

d. 细胞: 将培养细胞消化, 1000-1500rpm离心10min, 弃上清, 加0.3-0.5ml生理盐水制备成细胞悬液再进行破碎 (匀浆器匀浆、超声粉碎机或反复冻融3次进行破碎)。

e. 培养上清: 悬浮细胞需1000-1500rpm离心10min, 收集上清进行测定; 贴壁细胞可直接吸取上清进行测定。

三、最佳取样量的参考值。

(1) 血清 (浆) 样本: 取待测血清 (浆) 0.1ml。

(2) 全血、组织、细胞和培养上清: 取待测样本0.2ml。

谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 测定试剂盒 (比色法)

50T WLA107a 100T WLA107b

仅用于科学研究,不能用于诊断

Wanleibio



产品信息

四、酶促反应:以全血样本为例(试剂一应用液提前在37°C预温)

	非酶管	酶管
1mmol/L GSH (ml)	0.2	0.2
待测溶血液 (ml)		0.2
37°C水浴预温5min		
试剂一应用液 (ml)	0.1	0.1
37°C水浴准确反应5min		
试剂二 (ml)	2	2
待测溶血液 (ml)	0.2	

混匀,3500-4000rpm,离心10min,取上清1ml作显色反应。

五、显色反应:

	空白管	标准管	非酶管	酶管
GSH标准品溶剂应用液 (ml)	1			
20μmol/L GSH标准液 (ml)		1		
上清液 (ml)			1	1
试剂三应用液 (ml)	1	1	1	1
试剂四应用液 (ml)	0.25	0.25	0.25	0.25
试剂五应用液 (ml)	0.05	0.05	0.05	0.05

混匀,室温静置15min后,412nm处,1cm光径比色杯,双蒸水调零,测各管OD值。

六、计算公式:

1. 全血中GSH-PX活力的计算:

定义:规定每4μl全血在37°C反应5min,扣除非酶促反应的作用,使反应体系中GSH浓度降低1μmol/L为一个酶活力单位。

$$\text{GSH-PX酶活力 (U)} = \frac{\text{非酶管OD值} - \text{酶管OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{(20\mu\text{mol/L})} \times \text{稀释倍数} \left(5 \times \frac{1+X^{***}}{1+49} \right)$$

2. 组织、细胞中GSH-PX活力的计算:

定义:规定每毫克蛋白质,每分钟扣除非酶促反应的作用,使反应体系中GSH浓度降低1μmol/L为一个酶活力单位。

$$\text{组织GSH-PX酶活力} = \frac{\text{非酶管OD值} - \text{酶管OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{(20\mu\text{mol/L})} \times \frac{\text{稀释倍数}}{(5^*)} \div \text{反应时间} \div \frac{\text{取样量} \times \text{样本蛋白浓度}}{(\text{mg/ml})}$$

3. 血清中GSH-PX活力的计算:

定义:规定每0.1ml血清在37°C反应5min,扣除非酶促反应的作用,使反应体系中GSH浓度降低1μmol/L为一个酶活力单位。

$$\text{GSH-PX酶活力 (U)} = \frac{\text{非酶管OD值} - \text{酶管OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{(20\mu\text{mol/L})} \times \frac{\text{稀释倍数}}{(6\text{倍})} \times \frac{\text{样本测试前}}{\text{稀释倍数}}$$