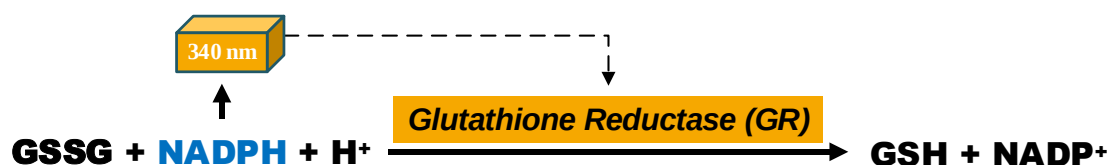




谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性检测试剂盒
Glutathione Reductase (GR) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



谷胱甘肽还原酶（GR）活性检测试剂盒

Glutathione Reductase (GR) Activity Assay Kit

一、产品描述

谷胱甘肽还原酶（GR）是维持细胞中还原型谷胱甘肽（GSH）含量的主要黄素酶，作为谷胱甘肽氧化还原循环的关键酶之一，能够催化氧化型谷胱甘肽（GSSG）还原为还原型谷胱甘肽（GSH），有助于维持体内 GSH/GSSG 比值，在氧化胁迫反应和抗坏血酸-谷胱甘肽循环途径中起着重要作用。

GR 能催化 NADPH 还原 GSSG 生成 GSH，同时 NADPH 脱氢生成 NADP^+ ，NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可表征谷胱甘肽还原酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解 （现用现配，配置完后置于冰上待用）
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 （现用现配，配置完后置于冰上待用）

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4°C 10000 rpm 离心 10 min，取上清即为**粗酶液**，置于冰上待测。

2.测定步骤

①紫外分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）预热 30 min 以上。

③在微量石英比色皿或 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
试剂二	10	10
试剂三	20	20
试剂一	150	170
粗酶液	20	-

吸光值测定：①迅速混匀并开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②将比色皿连同反应液放入 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）恒温水浴/培养箱中，反应 180 s 后，测定 190 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 ΔA 测定 = A1 测定 - A2 测定， ΔA 空白 = A1 空白 - A2 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定 - ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3. 谷胱甘肽还原酶（GR）活性计算

3.1 使用微量石英比色皿进行测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：pH 8.0 条件下每 mg 蛋白每分钟催化 1 μmol NADPH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{GR (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{0.536 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：pH 8.0 条件下每 g 组织每分钟催化 1 μmol NADPH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{GR (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{0.536 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，20 μL = 0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，200 μL = 2 × 10⁻⁴ L；ε：NADPH 摩尔消光系数，6.22 × 10³ L/mol/cm；d：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，3 min；W：样本质量，g；10⁶：单位换算系数，1 mol = 10⁶ μmol。

3.2 使用 96 孔 UV 板进行测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：pH 8.0 条件下每 mg 蛋白每分钟催化 1 μmol NADPH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{GR (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{1.072 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：pH 8.0 条件下每 g 组织每分钟催化 1 μmol NADPH 氧化定义为一个酶活力单位。

$$\text{GR (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{1.072 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，20 μL =0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，200 μL =2 $\times 10^{-4}$ L； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数，6.22 $\times 10^3$ L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，3 min；W：样本质量，g；10⁶：单位换算系数，1 mol=10⁶ μmol 。

四、注意事项

- ①粗酶液制备等过程均需要在冰上进行，建议样品处理后当天完成测定，粗酶液避免反复冻融；
- ②试剂一中含有一定浓度的蛋白（约 0.1 mg/mL），测定样品蛋白浓度时需减去本身的蛋白含量；
- ③反应过程中应保持 37°C（哺乳动物）或 25°C（其他物种）恒温，建议在烧杯中装入适量 37°C（哺乳动物）或 25°C（其他物种）蒸馏水，将此烧杯放入 37°C（哺乳动物）或 25°C（其他物种）恒温水浴中，在反应过程中把比色皿连同反应液放在此烧杯中；
- ④准确在 10 s 和 190 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性；若使用 96 孔 UV 板测定，需使用多道移液器且分批进行，以确保组间反应时间一致；
- ⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

