

## 谷胱甘肽还原酶(GR)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHB7-M48	谷胱甘肽还原酶活性检	48T	微量法
AMHB7-M96	测试剂盒	96T	

### 一、测定意义：

谷胱甘肽还原酶（GR）的测定在生物学、医学和毒理学等领域具有重要意义，谷胱甘肽还原酶（GR）的测定是评估氧化还原稳态、疾病机制、毒性效应及抗氧化能力的重要工具。其应用跨越基础研究、临床医学、环境监测和农业生产，为理解生命过程的氧化损伤与修复提供了关键数据支撑。

### 二、测定原理：

谷胱甘肽还原酶（GR）催化氧化型谷胱甘肽（GSSG），NADPH 为还原力供体，将 GSSG 还原为两分子 GSH，同时 NADPH 被氧化为 NADP<sup>+</sup>。通过监测 NADPH 的消耗速率间接反映 GR 的酶活性。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 9mL×1 瓶	液体 18mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 支	粉剂 ×1 支	-20℃保存
试剂二的配制：用时每瓶粉剂加入蒸馏水 1.5mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂三	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂三的配制：用时每瓶粉剂加入蒸馏水 1.5mL，混匀充分溶解，现用现配。			

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液(mL)为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃

离心 10 min，取上清置冰上待测；

2、细菌/细胞：按照细胞数量(10<sup>4</sup>个):提取液体积(mL)为 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 200W，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 5min）；然后 10000g，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测；

#### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 2、试剂回复至常温；
- 3、操作表（在 96 孔 UV 板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品（μL）	20	-
双蒸水（μL）	-	20
试剂一（μL）	150	150
试剂二（μL）	10	10
试剂三（μL）	20	20
记录 340nm 处 30s 时吸光值 A1 和 5min30s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）		

### 五、谷胱甘肽还原酶（GR）活性计算：

1、按样本鲜重计算：

**单位定义：**每克组织每分钟生成 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

**计算公式：**  $GR (U/min/g) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 535.8 \times \Delta A \div W$

2、按样本蛋白浓度计算：

**单位定义：**每毫克蛋白每分钟生成 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

**计算公式：**GR (U/min/mg prot) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 535.8 \times \Delta A \div \text{Cpr}$

3、按细菌或细胞数量计算：

**单位定义：**每 1 万个细菌或细胞每分钟生成 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

**计算公式：**GR (U/10<sup>4</sup> cell) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 1.07 \times \Delta A$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，2×10<sup>-4</sup> L； $\epsilon$ ：NADPH，6.22×10<sup>3</sup> L/mol/cm；

$d$ ：96 孔 UV 板光径，0.6cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：

加入提取液体积，1mL； $T$ ：反应时间，5min； $\text{Cpr}$ ：样本蛋白质浓

度，mg/mL；10<sup>9</sup>：单位换算系数，1mol=10<sup>9</sup>nmol； $W$ ：样本质量，

g。

## 六、注意事项：

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。

## 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

## 【售后微信】



## 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日