

## 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 测试剂盒	48T	微量法
AMHB7-M96		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
<b>试剂二的配制：</b> 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
<b>试剂三的配制：</b> 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 340m 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：**  $GR \text{ (U/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 535.8 \times \Delta A \div W$

- 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:**  $GR (U/min/mg prot) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 535.8 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

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

$V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4}$  L;  $\epsilon$ : NADPH,  $6.22 \times 10^3$  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;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白质浓

度, mg/mL;  $10^9$ : 单位换算系数,  $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ ;  $W$ : 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