

## 植物谷胱甘肽还原酶（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 |
|-----------|-------------|------|------|
| PYHA8-M48 | 植物谷胱甘肽还原酶   | 48T  | 微量法  |
| PYHA8-M96 | （GR）活性检测试剂盒 | 96T  |      |

### 一、测定意义：

植物谷胱甘肽还原酶（GR）的测定在植物生理学、生态学和农业研究中具有重要意义。GR 活性测定是揭示植物抗氧化状态、抗逆能力及环境适应性的重要手段，广泛应用于农业育种、生态毒理、基础研究等领域，为植物健康管理和逆境调控提供理论依据。

### 二、测定原理：

谷胱甘肽还原酶催化氧化型谷胱甘肽，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 10mL×1 瓶 | 液体 20mL×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：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 瓶     | 粉剂 ×2 瓶      | -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

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或

者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

#### 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.测定前将试剂恢复至常温；

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  |
| 迅速混匀，在波长 340nm 处读取 30s 时吸光值 A1 和 5min30s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ；<br>$\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管） |     |     |

#### 五、植物谷胱甘肽还原酶活性计算：

(1)按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟消耗 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

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

(2)按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每分钟消耗 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

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

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$  L； $\epsilon$ ：NADPH 消光摩尔系数， $6.22 \times 10^3$

L/mol/cm；d：比色皿光径，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；Cpr：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:

1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本, 稀释成不同浓度进行预试, 以选取最佳取样浓度;  $\Delta A$  如果小于 0.005, 可将反应时间延长, 计算时除以相应的反应时间即可; 如果高于 0.5 可将样本用提取液进行稀释, 计算时乘以相应的稀释倍数即可。

2、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本, 稀释成不同浓度进行预试, 以选取最佳取样浓度。

## 【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