

## 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 (GR) 活性检测试剂盒	48T	微量法
PYHA8-M96		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
<b>试剂二的配制：</b> 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
<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

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340m处读取30s时吸光值A<sub>1</sub>和5min30s时的吸光值A<sub>2</sub>，计算ΔA<sub>测定</sub>=A<sub>1</sub><sub>测定</sub>-A<sub>2</sub><sub>测定</sub>，ΔA<sub>空白</sub>=A<sub>1</sub><sub>空白</sub>-A<sub>2</sub><sub>空白</sub>；  
 $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（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。

$$\begin{aligned} \text{GR (U/g)} &= [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ &= 535.8 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

##### (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。

$$\begin{aligned} \text{GR (U/mg prot)} &= [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 535.8 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

V<sub>反总</sub>: 反应体系总体积, 2×10<sup>-4</sup> L; ε: NADPH消光摩尔系数, 6.22×10<sup>3</sup> L/mol/cm; d: 比色皿光径, 0.6cm; V<sub>样</sub>: 加入样本体积, 0.02mL; V<sub>样总</sub>: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 5min; C<sub>pr</sub>: 样本蛋白浓度。

蛋白浓度, 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