

## Glutathion Reductases Activity Assay Kit

### 谷胱甘肽还原酶(GR)活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL875A	谷胱甘肽还原酶(GR)活性检测试剂盒 分光法	48T

#### 产品简介:

谷胱甘肽还原酶 (GR, EC 1.6.4.2) 是在动植物中都有发现, 是一类黄素蛋白氧化还原酶, 催化氧化型谷胱甘肽(GSSG)还原成还原型谷胱甘肽 (GSH), GSH / GSSG 的比率越高, 则越能清除氧化胁迫过程中产生的活性氧, 因此 GR 酶活性高低是衡量氧化应激能力的一个重要指标。

GR 催化 GSSG 生成的 GSH 可以与 DTNB 反应, 生成黄色产物 (TNB)。该产物在 412nm 出有最大吸收。TNB 生成量和 GR 活性成线性正相关, 可通过测定 412nm 处吸光值计算出谷胱甘肽还原酶 (GR) 的活性水平。该方法在可见光下测定, 检测产物相对传统测试方法灵敏度高、测定物更稳定、可操作性更强。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	80mL×1 瓶	4°C保存	
试剂 A	0.25 mL×1 支	4°C保存	使用前甩几下或 4°C离心使试剂落入试管底部, 避免试剂浪费。
试剂 B	粉末×1 支	-20°C保存	使用前甩几下或 4°C离心使试剂落入试管底部, 再加 0.3 mL 蒸馏水溶解备用, 现配现用。
试剂一	粉末×1 瓶	4°C保存	使用前甩几下或 4°C离心使试剂落入试管底部, 再加 25mL 蒸馏水溶解。
试剂二	粉末×2 支	4°C保存	使用前甩几下或 4°C离心使试剂落入试管底部, 每支加 1.1mL 蒸馏水溶解; 溶解后-20°C 保存 2 周。
试剂三	2.5mL×1 瓶	4°C保存	固体出现可以 25°C水浴 5min, 使其呈液体状态。

#### 使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费。

##### 一、样本准备

###### 1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清待测。

【注】: 根据研究需求, 可按组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 10 的比例进行提取。

###### 2. 细菌/细胞样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



- (b) 取约  $5 \times 10^6$  个细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；
- (c) 12000rpm 4°C 离心 10min，取上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照每  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细菌/细胞加入 1ml 提取液的比例进行提取。

### 3. 液体样本：

澄清液体直接检测，浑浊液则需离心后取上清测定。

## 二、样品测定

1. 可见分光光度计预热 30 min，设置温度在 25°C，设定波长到 412 nm，蒸馏水调零。
2. 所有试剂在使用前均须在室温或 25°C 水浴锅中温育 10min。
3. 在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（ $\mu\text{L}$ ）	测定管
试剂一	400
提取液	240
样本	80
试剂二	40
试剂三	40
立即混匀，于 412nm 波长下 30s 时读取初始吸光度 A1，室温（25°C）孵育 10min 后再测一次吸光度 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】：1 若  $\Delta A$  小于 0.01，可延长反应时间 T（如延长到 20min 后读 A2）或增加 V1（如由 80 $\mu\text{L}$  增至 160 $\mu\text{L}$ ，则提取液相应减少），则改变后的 T 和 V1 代入公式重新计算；若所测  $\Delta A$  值依然在零点附近徘徊，可能样本 GR 酶活性低，建议浓缩样本后再进行测定；

2  $\Delta A$  每分钟变化宜在 0.005-0.1，若样本 GR 酶活性过高，建议样本稀释 2~5 倍后再进行测定；

3 若 A1 值大于 1.5 且  $\Delta A$  又小于 0.01，则样本中可能含有高浓度 GSH 等还原性物质且该酶活性比较低；可先取 200 $\mu\text{L}$  离心后的上清液或澄清液体样本至新离心管中，先加 5 $\mu\text{L}$  试剂 A，混匀后于 25°C 静置 5min；再加 5 $\mu\text{L}$  试剂 B，混匀后于 25°C 静置 5min。该混合液再做为样本进行测定，则所有的计算公式再统一乘以 1.05（样本的扩大倍数）。

4 本试剂盒检测时牵涉到氧化还原反应，所有氧化剂或还原剂都会干扰本试剂盒的测定，另外硫酸钠、硫酸铵和铁氰化物都会干扰本试剂盒的测定。请尽量避免。

## 三、结果计算

### 1. 按蛋白浓度计算

酶活定义：在 25°C 反应条件下，每毫克蛋白每分钟还原 1nmol GSSG 生成 2nmol GSH 为 1 个酶活单位。

$$\text{GR 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = (\Delta A \div \epsilon \div d \div 2 \times 10^9 \times V2) \div (\text{Cpr} \times V1) \div T \times D \\ = 36.8 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times D$$

### 2. 按样本质量计算

酶活定义：在 25°C 反应条件下，每克样本每分钟还原 1nmol GSSG 生成 2nmol GSH 为 1 个酶活单位。

$$\text{GR 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = (\Delta A \div \epsilon \div d \div 2 \times 10^9 \times V2) \div (W \times V1 \div V) \div T \times D \\ = 36.8 \times \Delta A \div W \times D$$

### 3. 按细胞/细菌数量计算：

酶活定义：在 25°C 反应条件下，每  $10^4$  个细胞/细菌样本每分钟还原 1nmol GSSG 生成 2nmol GSH 为 1 个酶活单位。

$$\text{GR 酶活}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = (\Delta A \div \epsilon \div d \div 2 \times 10^9 \times V2) \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ = 0.074 \times \Delta A$$

### 4. 按液体体积计算

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



酶活定义：在 25°C 反应条件下，每毫升液体每分钟还原 1nmol GSSG 生成 2nmol GSH 1 个酶活单位。

$$\text{GR 酶活}(\text{nmol} / \text{min} / \text{mL}) = (\Delta A \div \epsilon \div d \div 2 \times 10^6 \times V_2) \div V_1 \div T \\ = 36.8 \times \Delta A$$

$\epsilon$ ----TNB 摩尔消光系数,  $1.36 \times 10^4 \text{ L} / \text{mol} / \text{cm}$                        $d$ ----光径, 1 cm  
2----1 $\mu\text{mol}$  GSSG 生成 2 $\mu\text{mol}$  GSH                                       $W$ ----样本质量, g  
 $D$ ----稀释倍数, 未稀释, 即为 1                                         $V$ ----提取液体积, 1 mL  
 $V_1$ ----加入反应体系中上清液体积,  $80\mu\text{L} = 8 \times 10^{-2} \text{ mL}$      $V_2$ ----反应体系总体积,  $800\mu\text{L} = 8 \times 10^{-4} \text{ L}$   
 $C_{pr}$ ----上清液蛋白浓度 (mg/mL)  
 $T$ ----反应时间, 10min, 若延长反应时间则代入计算公式重新计算

### 注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 有效期:

-20°C保存六个月。

