

谷胱甘肽还原酶（GR）活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1114

产品规格：100管/48样

产品简介：

GR是广泛存在于真核和原核生物中的一种黄素蛋白氧化还原酶，GR催化GSSG还原生成GSH，是谷胱甘肽氧化还原循环的关键酶之一（通常昆虫中GR被TrxR取代）。GR催化NADPH还原GSSG生成GSH，有助于维持体内GSH/GSSG比值。GR在氧化胁迫反应中对活性氧清除起关键作用，此外GR还参与抗坏血酸-谷胱甘肽循环途径。

GR能催化NADPH还原GSSG再生GSH，同时NADPH脱氢生成NADP⁺；NADPH在340nm有特征吸收峰，相反NADP⁺在该波长无吸收峰；通过测定340nm吸光度下降速率来测定NADPH脱氢速率，从而计算GR活性。

注意：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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体3mL×1瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂三：临用前加入5.0mL蒸馏水，混匀。

试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计、低温离心机、水浴锅、移液器、匀浆器/研钵、1mL石英比色皿和蒸馏水。

操作步骤（仅供参考）：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

称约0.1g组织，加入1.0mL试剂一，冰上充分研磨，10000rpm 4℃离心10min，取上清液，待测。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计预热30min以上，调节波长到340nm，蒸馏水调零。
2. 试剂一置于25℃（普通物质）或者37℃（哺乳动物）中预热30min以上。
3. 空白管：取1mL石英比色皿，加入50μL试剂二，100μL试剂三，850μL试剂一，于340nm测定10s和190s吸光度，记为A空1和A空2。
4. 测定管：取1mL石英比色皿，加入50μL试剂二，100μL试剂三，100μL上清液，750μL试剂一，于340nm测定10s和190s吸光度，记为A测1和A测2。
5. 注：样本测定10s时吸光度后，将比色皿放入25℃（普通物质）或者37℃（哺乳动物）水浴，3min后拿出，吸打混匀，立即测定190s时的吸光度。

三、GR活性计算

（1）按样本蛋白浓度计算

活性单位定义：在一定温度中，pH8.0条件下，每毫克蛋白每分钟催化1μmol NADPH氧化为一个酶活力单位。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

GR 酶活(U/mg prot) = $[(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \times 10^6] \div [Cpr \times V \text{ 样}] \div T = 0.536 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div Cpr$

(2) 按样本质量计算

活性单位定义：在一定温度中，pH8.0 条件下，每克样本每分钟催化 1 μ mol NADPH 氧化为一个酶活力单位。

GR 酶活(U/g 质量) = $[(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \times 10^6] \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \div T = 0.536 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div W$

ΔA 空白管 = A 空 1 - A 空 2; ΔA 测定管 = A 测 1 - A 测 2; ϵ : NADPH 摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 比色皿光径, 1cm; V 反总: 反应体系总体积, $1000\mu\text{L} = 0.001\text{L}$; 10^6 : 单位换算系数, $1\text{mol} = 10^6\mu\text{mol}$; Cpr : 上清液蛋白浓度, mg/mL ; V 样: 加入反应体系中上清液体积, $100\mu\text{L} = 0.1\text{mL}$; V 样总: 样本总体积, 1mL; T : 反应时间, 3min; W : 样本质量, g。

注意事项:

1. 样本处理等过程均需要在冰上进行，且须在当日测定酶活力，匀浆液避免反复冻融；
2. 试剂三须现配现用，配置完后，置于冰上；
3. 测定前须先用 1-2 个样做预实验，哺乳动物组织一般须用试剂一稀释 2-5 倍；
4. 由于试剂一中含有一定浓度的蛋白（约 0.1mg/mL），所以在测定样本蛋白浓度时需要减去试剂一本身的蛋白含量。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com