

谷胱甘肽还原酶（GR）活性测定试剂盒

（货号：SH3006 酶标法 96T）

一、产品简介

谷胱甘肽还原酶（Glutathione Reductase, GR, EC 1.8.1.7）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，是谷胱甘肽氧化还原循环的关键酶之一。GR 催化 NADPH 还原氧化型谷胱甘肽（GSSG）生成还原型谷胱甘肽（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。

二、检测原理

本试剂盒采用 Ellman 法，GR 催化 GSSG 还原生成 GSH，新生成的 GSH 与 DTNB 迅速反应生成黄色的 2-硝基-5-巯基苯甲酸（TNB）。通过测定 412 nm 处 TNB 吸光度的增加速率，即可计算 GR 的酶活性。当体系中 GSSG 过量时，GSH 的生成速率（即 TNB 的生成速率）与 GR 活性呈线性正相关。

三、试剂盒组分与规格

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 1.2mg×1 瓶	4℃保存	用前甩几下或 4℃离心使试剂落入底部，再加 1mL 蒸馏水溶解。
试剂二	粉剂 2mg×1 瓶	4℃保存	用前甩几下或 4℃离心使试剂落入底部，再加 1mL 蒸馏水溶解；溶解后-20℃保存 2 周。
试剂三	液体 1mL×1 瓶	4℃保存	出现固体时可以 25℃水浴 5min，使固体完全溶解呈液体状态。

四、所用到的仪器和用品

酶标仪、台式低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液器、96 孔板、匀浆器、蒸馏水。

五、谷胱甘肽还原酶（GR）活性测定

正式实验前务必选取 2-3 个预期差异较大的样本做测定，了解本批样本情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：



①组织样本：称取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆，在 4℃ 12000g 离心 10min，取上清待测。

【注】若增加样本量，可以按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 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；按照细菌或细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000g 4℃离心 10min，取上清待测。

③液体样本：直接检测，若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测

①酶标仪预热 30min 以上，设置温度在 25℃，调节波长至 412nm。

②所有试剂在使用前解冻至室温或 25℃水浴锅温育 10min。

③试剂一和提取液和试剂三可按照 10:150:10 比例配成混合液（该混合液配多少用多少，现配现用，一枪加 170μL 该混合液）；可先加样本，再加试剂二（该试剂务必单独加），最后加现配现用的混合液。

④在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
试剂一	10
提取液	150
样本	20
试剂二	10
试剂三	10
立即混匀，在 412nm 波长下 30 秒时读取 A1，室温（25℃）条件下孵育 10min 后再读取 A2；ΔA=A2-A1。	

六、结果计算

1、按照蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克蛋白每分钟还原 1nmol GSSG 生成 2nmol GSH 为 1 个酶活单位。

$$\text{GR 酶活}(\text{nmol/min/mg prot})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \div 2 \times V_2 \times 10^9] \div (C_{pr} \times V_1) \div T \times D$$

2、按照样本鲜重计算：

酶活定义：每克样本每分钟还原 1nmol GSSG 生成 2nmol GSH 为 1 个酶活单位。

$$\text{GR 酶活}(\text{nmol/min/g 鲜重})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \div 2 \times V_2 \times 10^9] \div (W \times V_1 \div V) \div T \times D$$



3、按照细菌或细胞数量计算：

酶活定义：每 10⁴ 个细菌/细胞每分钟还原 1nmol GSSG 生成 2nmol GSH 为 1 个酶活单位。

GR 酶活(nmol/min/10⁴cell)=[ΔA÷(ε×d) ÷2×V2×10⁹]÷(500×V1÷V) ÷T×D

4、按照液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟还原 1nmol GSSG 生成 2nmol GSH 为 1 个酶活单位。

GR 酶活(nmol/min/mL)=[ΔA÷(ε×d) ÷2×V2×10⁹]÷V1÷T×D

ε---TNB 摩尔消光系数，1.36×10⁴L/mol/cm； d---96 孔板光径，0.5cm；

2---1μmol GSSG 生成 2μmol GSH； T---反应时间，10min；

V---加入提取液体积，1mL； V1---加入样本体积，0.02mL；

V2---反应体系总体积，0.2mL； W---样本质量，g；

500---细胞数量，万； D---稀释倍数，未稀释即为 1

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，推荐使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒（货号：AR0146）。