



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

谷胱甘肽还原酶(GR)活性检测试剂盒(分光光度法)

货号: R41806

规格: 50T/48S

保质期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
R41806-A	100mL×1瓶	2-8℃保存;
R41806-B	粉剂×1瓶	2-8℃保存; 临用前加入5.0 mL蒸馏水, 混匀
R41806-C	3ml×1瓶	2-8℃保存;

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义: 谷胱甘肽还原酶 (Glutathion Reductases, 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。

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

自备用品:

紫外分光光度计、1ml 石英比色皿、水浴锅、低温离心机、可调式移液枪、研钵、冰和双蒸水。

粗酶液提取:



1. 细菌或培养细胞: 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 (10^4 个): R41806-A 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL R41806-A, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 300W, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3min)); 然后 8000g 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

2. 组织: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL R41806-A, 进行冰浴匀浆。8000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

3. 血清 (浆) 样品: 直接检测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
2. R41806-A 置于 25℃ (普通物质) 或者 37℃ (哺乳动物) 水浴中预热 30min。
3. 样本测定, 依次在 1mL 石英比色皿中加入下列试剂:

试剂名称	测定管(ul)	空白管(ul)
R41806-A		850
R41806-B		100
R41806-C		50
充分混匀后于340nm处测定10s和190 s吸光度, 分别记为A空1和A空2, ΔA 空白管=A空1-A空2;		
R41806-A	750	
R41806-B	100	
待测样本(上清液)	100	
R41806-C	50	
充分混匀后于340nm处测定第10s和第190s的吸光值, 分别记为A测1和A测2, ΔA 测定管=A测1-A测2。		

注意: 空白管和标准管分别只需测定 1-2 次。

GR 酶活性计算:

1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义: 一定温度中, pH8.0 条件下, 每 mg 蛋白每分钟催化 1 μ mol NADPH 氧化为 1 个酶活单位。

计算公式: $GR (U/mg \text{ prot}) = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反应} \times 10^6]$



$$J = (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 0.536 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div Cpr$$

2. 按样本质量计算

活力单位定义: 一定温度中, pH8.0 条件下, 每 g 样本每分钟催化 $1\mu\text{mol}$ NADPH 氧化为 1 个酶活单位。

$$\text{计算公式: } GR (U/g) = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.536 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W$$

3. 按细胞数量计算

活性单位定义: 一定温度中, pH8.0 条件下, 每 10^4 个细胞每分钟催化 $1\mu\text{mol}$ NADPH 氧化为 1 个酶活单位。

$$\text{计算公式: } GR (U/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.536 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{细胞数量}$$

4. 按液体体积计算

活性单位定义: 一定温度中, pH8.0 条件下, 每毫升液体每分钟催化 $1\mu\text{mol}$ NADPH 氧化为 1 个酶活单位。

$$\text{计算公式: } GR (U/mL) = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div V_{\text{样}} \div T = 0.536 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}})$$

注: ϵ : NADPH 摩尔消光系数 $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, $1000\mu\text{L} = 0.001 \text{ L}$; 10^6 : $1\text{mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$; Cpr : 上清液蛋白浓度 (mg/mL); $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, $100\mu\text{L} = 0.1 \text{ mL}$; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL ; W , 样本质量(g); T : 反应时间, 3min 。

注意事项:

1. 样品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. R41806-B 须临用前配制, 配制完后, 置于冰上, 未使用完的 4°C 保存, 三天内使用完;

3. 测定前须先用 1~2 个样做预实验, 确保 180s 内吸光值变化呈线性, 哺乳动物组织一般须用 R41806-A 稀释 2~5 倍;



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

4. 细胞中 GR 活性测定时, 细胞数目须在 300 万-500 万之间, 细胞中 GR 的提取时可加 R41806-A 后研磨或超声波处理, 不能用细胞裂解液处理细胞;

5. R41806-A 中含有一定浓度的蛋白 (约 0.1 mg/mL), 测定样品蛋白浓度时需减去本身的蛋白含量。



源叶