

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K099-S

产品规格: 50 assays(48 samples)/ 100 assays(96 samples)

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计 (340 nm)

Elabscience®谷胱甘肽还原酶(GR)比色法测试盒

Glutathione Reductase (GR) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

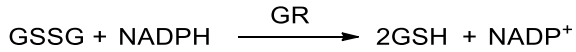
具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、组织、细胞等样本中的 GR 活力。

检测原理

由还原型辅酶 (NADPH) 供氢, 催化氧化型谷胱甘肽 (GSSG), 还原成还原型谷胱甘肽 (GSH), 在 340 nm 处, 通过检测 NADPH 的改变, 可计算出 GR 的活力, 其原理如下图。



本试剂盒检测组织和细胞样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用考马斯亮蓝法 (货号: E-BC-K168-S)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1(Size 1) (50 assays)	规格 2(Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	60 mL×3 瓶	60 mL×6 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂×4 支	粉剂×8 支	-20°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×2 支	粉剂×4 支	-20°C 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：紫外-可见分光光度计（340 nm）、37°C恒温气浴箱、涡旋混匀仪、磁力搅拌器、微量移液器（1000 μL，200 μL，100 μL，10 μL）、烧杯（100 mL，250 mL）。

耗材：枪头（1000 μL，200 μL，10 μL）、EP管（5 mL，2 mL）、吸水纸、擦镜纸、磁力搅拌子。

试剂：双蒸水或去离子水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

试剂准备

- ① 将试剂一平衡至室温。
- ② 试剂二：用时每支加1 mL双蒸水充分溶解后备用，2-8°C保存两天。
- ③ 试剂三：用时每支加1 mL双蒸水充分溶解后备用，-20°C保存两天。
- ④ 工作液的配制：

按试剂一：试剂二：试剂三=2300：60：30的比例进行配制，用多少配制多少，2-8°C保存4天。

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本：直接测定。

组织样本：组织处理的匀浆介质为 PBS (0.01 M, pH 7.4)。匀浆后, 4°C, 10000 × g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

细胞样本：取约 10⁶ 个细胞加入 300 μL PBS (0.01 M, pH 7.4) 匀浆。匀浆后, 4°C, 10000 × g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前, 需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验, 结合本试剂盒的检测范围 (6.2-320 U/L), 选取最佳稀释倍数, 进行正式批量实验。不同样本的稀释比例范围如下表 (仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	大鼠血清	不稀释
人血浆	不稀释	大鼠血浆	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%小鼠肝匀浆	1-3
小鼠血浆	不稀释	10%绿萝匀浆	不稀释

注：稀释液为双蒸水或生理盐水 (0.9% NaCl)。

实验关键点

① 必须严格控制反应时间及操作时间。

② 实验开始前, 石英比色皿必须要放入 37°C 恒温气浴箱中预热 5 分钟。

③ 每次实验只可做一个样。

④ 最好两个人同时做此实验, 一个人计时, 一个人比色, 保证实验结果的准确性

操作步骤

- ① 将比色皿 37°C 预热 5 分钟。
- ② 紫外分光光度计 340 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零。（准备两个石英比色皿，一个用于调零，另一个用于测定）
- ③ 向相应编号的 5 mL EP 管中加入 65 μ L 待测样本，吸取 3120 μ L 工作液加入 EP 管中，快速混匀并计时。
- ④ 迅速倒入比色皿中（比色皿无需润洗），340 nm 波长，30 秒时测其吸光度 A_1 。
- ⑤ 37°C 孵育，2 分 20 秒时拿出，2 分 30 秒时读取吸光度 A_2 。
- ⑥ 求出 2 次吸光度差值 (ΔA 测定/空白= A_1-A_2)

操作表

	空白管	测定管
双蒸水 (μ L)	65	--
待测样本 (μ L)	--	65
工作液 (μ L)	3120	3120
迅速混匀，1 cm 石英比色皿，340 nm 波长，测定 30 秒时吸光度 A_1 ，37°C 孵育，2 分 20 秒时拿出，2 分 30 秒时读取吸光度 A_2 ， ΔA 测定/空白= A_1-A_2 。		

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

血清（浆）中 GR 活力计算：

定义：37°C条件下，每升血清（浆）每分钟使反应体系中底物 NADPH 的浓度改变 1 mmol 所需的酶量为 1 个酶活力单位。

$$\text{GR活力} \left(\frac{\text{U}}{\text{L}} \right) = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times l} \div t \times \frac{V_1}{V_2} \times f$$

组织、细胞中 GR 活力计算：

定义：37°C条件下，每克组织蛋白每分钟使反应体系中底物 NADPH 的浓度改变 1 mmol 所需的酶量为 1 个酶活力单位。

$$\text{GR活力} \left(\frac{\text{U}}{\text{gprot}} \right) = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times l} \div t \times \left(\frac{V_1}{V_2 \times C_{\text{pr}}} \right) \times f$$

注解：

ΔA ： $\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$

ε ：1 mM NADPH 在 340 nm 波长 1 cm 光径的消光系数为 6.22 L/(mmol cm)

l：比色光径（1 cm）

t：反应时间（2 min）

V_1 ：单位定义中体积 1 L = 1000 mL

V_2 ：加入检测体系样本量（0.065 mL）

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

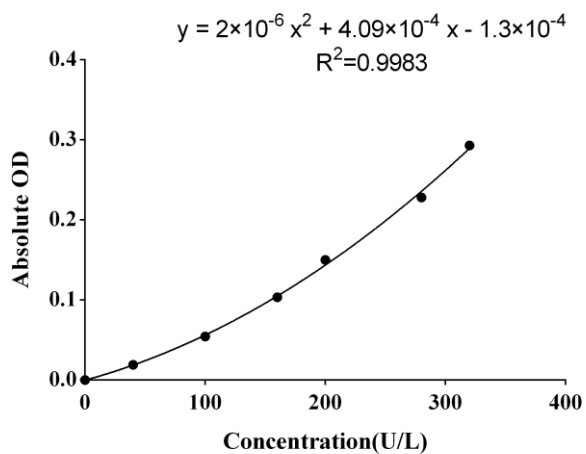
C_{pr} ：待测样本的蛋白浓度（gprot/L）

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	6.2-320 U/L	平均批间差	2.5%
灵敏度	6.2 U/L	平均批内差	2.1%
平均回收率	100%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

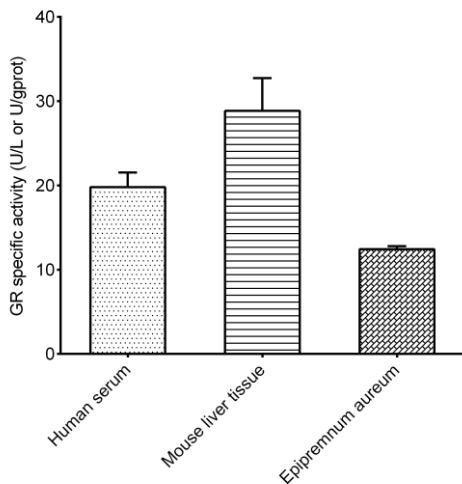
例如检测人血清(数据仅供参考):

取0.065 mL人血清,按说明书操作,结果如下:

空白A₁的OD值为0.470,空白A₂的OD值为0.467,样本A₁的OD值为0.483,样本A₂的OD值为0.467,计算结果为:

$$\text{GR活力 (U/L)} = \frac{(0.483-0.467)-(0.470-0.467)}{6.22 \times 1} \div 2 \times 1000 = 0.065 = 16.08 \text{ (U/L)}$$

按照操作过程,测定人血清(加样量65 μL)和小鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量13.198 g/L,稀释倍数2,加样量65 μL)、绿萝叶子(10%组织匀浆的蛋白浓度1.924 g/L,加样量65 μL)中的GR活力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	反应时间未准确控制	两个人进行实验,严格控制反应时间
	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测
	工作液配制错误	严格按照说明书中试剂配制步骤重新配制工作液
样本测量结果>320 U/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数,重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长
	比色皿未预热	将比色皿预热后进行实验

声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H₂O₂ generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675

11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose

- and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113
22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
 23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
 24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
 25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
 26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
 27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
 28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- β Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
 29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
 30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508