（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-M

产品规格：48T(46 samples)/ 96T(94 samples)

检测仪器：酶标仪(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、动物组织、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。

$$GSSG + NADPH \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^+$$

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）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	14 mL×1 瓶	28 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃ 保存 6 个月
	96 孔紫外酶标板	96 孔×1 块		无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

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：酶标仪(340 nm)、37℃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)

试剂：双蒸水或去离子水、生理盐水(0.9% NaCl)

试剂准备

① 实验前将试剂一平衡至室温，试剂二和试剂三置于冰上待用。

② 试剂二工作液的配制：

取一支试剂二加1 mL双蒸水充分溶解后备用，未使用完的溶液可2-8℃保存4天。

③ 试剂三工作液的配制：

取一支试剂三加1 mL双蒸水充分溶解后备用，未使用完的溶液可-20℃保存7天。

④ 工作液的配制：

按试剂一：试剂二：试剂三=2300: 60: 90的比例进行配制，按需配置，2-8℃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生理盐水（0.9% NaCl）。匀浆后，4℃，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 10^6 个细胞加入生理盐水（0.9% NaCl）匀浆。匀浆后，4℃，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（1.87-150 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	2-8
小鼠血浆	不稀释		

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）。

实验关键点

① 严格控制反应时间及操作时间。

② 若测定孔 A_2 值低于 0.2，需对样本进行稀释。

操作步骤

① 空白孔：取 10 μL 双蒸水加入相应空白孔中;

测定孔：取 10 μL 待测样本加入相应测定孔中。

② 各孔加入 200 μL 工作液。

③ 酶标仪 340 nm 波长检测各孔吸光度 A_1，37°C 孵育 15 min 后，检测吸光度 A_2, $\triangle A = A_1 - A_2$。

操作表

	空白孔	测定孔
双蒸水（μL）	10	--
待测样本（μL）	--	10
工作液（μL）	200	200
酶标仪 340 nm 波长检测各孔吸光度 A_1，37°C 孵育 15 min 后，检测吸光度 A_2, $\triangle A = A_1 - A_2$。		

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℃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 μmol 所需的酶量为 1 个酶活力单位。

$$\text{GR 活力（U/L）} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times 0.6} \div t \times \frac{V_1}{V_2} \times 1000 \times f$$

组织、细胞中 GR 活力计算：

定义：37℃条件下，每克样本蛋白每分钟使反应体系中底物 NADPH 的浓度改变 1 μmol 所需的酶量为 1 个酶活力单位。

$$\text{GR 活力（U/gprot）} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times 0.6} \div t \div C_{pr} \times \frac{V_1}{V_2} \times 1000 \times f$$

注解：

ΔA：$\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$

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，0.6 cm

t：反应时间，15 min

V_1：检测孔中体积，210 μL

V_2：加入检测体系样本量，10 μL

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

1000：1 mmol = 1000 μmol

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	1.87-150 U/L	**批间差**	2.1-6.8 %
灵敏度	1.87 U/L	**批内差**	1.5-3.9 %
回收率	96-105 %		

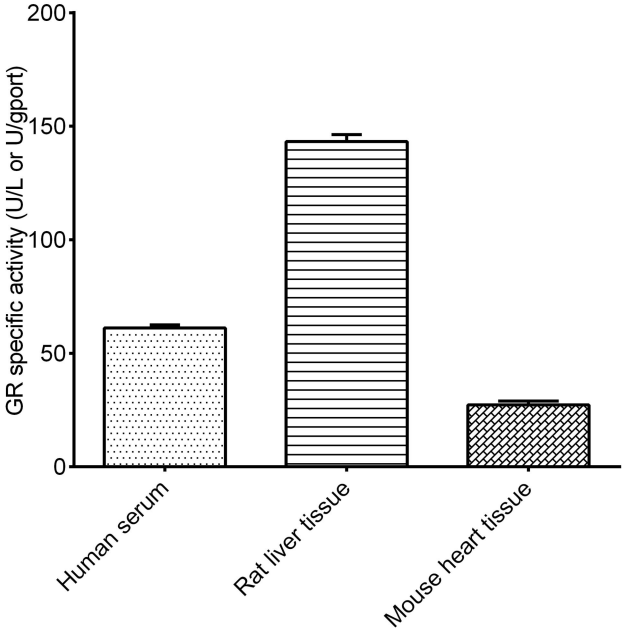
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考)：

取10 μL人血清，按说明书操作，结果如下：空白A_1的OD值为0.845，空白A_2的OD值为0.832，测定孔A_1的OD值为0.833，测定孔A_2的OD值为0.659，计算结果为：

$$\text{GR活力（U/L）} = \frac{(0.833 - 0.659) - (0.845 - 0.832)}{6.22 \times 0.6} \div 15 \times 1000 \times 21 = 60.39\ \text{U/L}$$

按照操作过程，测定人血清（加样量10 μL）、大鼠肝脏组织（10%组织匀浆的蛋白含量13.20 g/L，稀释倍数4，加样量10 μL）和小鼠心组织（10%组织匀浆的蛋白含量6.90 g/L，加样量10 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
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

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. Maleki M, Tabnak P, Golchin A, et al. Resveratrol inhibited colorectal cancer progression by reducing oxidative DNA damage by targeting the JNK signaling pathway[J]. Heliyon, 2024, 10(21).

2. Ihunwo O C, Ibezim-Ezeani M U. Metal accumulation in muscle and oxidative stress response in the liver of juvenile Oreochromis niloticus from contaminated sediment under a simulation of increasing temperature[J]. Environmental Research Communications, 2022, 4(7): 075008.

3. Albrakati A. The potential neuroprotective of luteolin against acetamiprid-induced neurotoxicity in the rat cerebral cortex[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2024, 11: 1361792.

4. Wang K, Hou D Z, Ouyang Y M, et al. Resveratrol enhances paclitaxel-induced apoptosis through oxidative DNA damage in Caco-2 human colon cancer cells[J]. South African Journal of Botany, 2023, 157: 579-586.

5. Wang K, Hou D Z, Ouyang Y M, et al. Resveratrol enhances paclitaxel-induced apoptosis through oxidative DNA damage in Caco-2 human colon cancer cells[J]. South African Journal of Botany, 2023, 157: 579-586.

6. Kwon Y S, Park C B, Lee S M, et al. Comprehensive analysis of proteomic and biochemical responses of Daphnia magna to short-term exposure to polystyrene microplastic particles[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2025, 290: 117581.