

植物谷胱甘肽还原酶活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHA8-C24	谷胱甘肽还原酶(GR)活性检测试剂盒 说明书	24T	常量法
PYHA8-C48		48T	

一、测定意义：

植物谷胱甘肽还原酶（Glutathione Reductase, GR）的测定在植物生理学、生态学和农业研究具有重要意义。GR活性测定是揭示植物抗氧化状态、抗逆能力及环境适应性的的重要手段，广泛应用于农业育种、生态毒理、基础研究等领域，为植物健康管理和逆境调控提供理论依据。

二、测定原理：

谷胱甘肽还原酶（Glutathione Reductase, GR）催化氧化型谷胱甘肽（GSSG），NADPH 为还原力供体，将 GSSG 还原为两分子 GSH，同时 NADPH 被氧化为 NADP⁺。通过监测 NADPH 的消耗速率间接反映 GR 的酶活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 21mL×1 瓶	液体 42mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂二：用时每瓶粉剂加入蒸馏水 1.5mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂三：用时每瓶粉剂加入蒸馏水 3mL，混匀充分溶解，现用现配。			

四、操作步骤：

样本前处理

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

测定步骤

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
- 测定前将试剂恢复至常温；

3. 操作表:

	测定管	空管
样品 (μL)	100	-
双蒸水 (μL)	-	100
试剂一 (μL)	750	750
试剂二 (μL)	50	50
试剂三 (μL)	100	100
迅速混匀, 在波长 340nm 处 读取 30s 时吸光值 A1 和 5min30s 时的吸光值 A2, 计算 $\Delta A = A1_{测定} - A2_{测定}$ 。 $\Delta A_{空白} = A1_{空白} - A2_{空白}$; $\Delta A = \Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}$ 。(空白管只做 1-2 管)		

四、植物谷胱甘肽还原酶活性计算:

(1) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每克组织每分钟消耗 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

$$GR (U/g) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T$$

(2) 按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每毫克蛋白每分钟消耗 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

$$GR (U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \times C_{pr}) \div T$$

V 反总: 反应体系总体积, 1×10^{-3} L;

ϵ : NADPH, 6.22×10^3 L/mol/cm;

d: 比色皿光径, 1cm;

V 样: 加入样本体积, 0.1mL;

V 样总: 加入提取液体积, 1mL;

T: 反应时间, 5min;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

10^9 : 单位换算系数, $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$;

W: 样本质量, g;

五、 注意事项:

- 1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本, 稀释成不同浓度进行预试, 以选取最佳取样浓度;
- 2、 ΔA 如果小于 0.005, 可将反应时间延长, 计算时除以相应的反应时间即可; 如果高于 0.5 可将样本用提取液进行稀释, 计算时乘以相应的稀释倍数即可。