

植物谷胱甘肽还原酶（GR）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-M48	植物谷胱甘肽还原酶（GR）活性检测 试剂盒说明书	48T	微量法
PYHA8-M96		96T	

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、生态学和农业研究中具有重要意义。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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 120mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 支	粉剂 ×1 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 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂三：用时每瓶粉剂加入蒸馏水 1.5mL，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

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 测定前将试剂恢复至常温；

3. 操作表（在96孔UV板中加入以下试剂）：

	测定管	空管
样品（μL）	20	-
双蒸水（μL）	-	20
试剂一（μL）	150	150
试剂二（μL）	10	10
试剂三（μL）	20	20
记录 340nm 处 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（GR）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， $0.2 \times 10^{-3} L$ ；

ϵ ：NADPH， $6.22 \times 10^3 L/mol/cm$ ；

d：比色皿光径，0.6cm；

V 样：加入样本体积，0.02mL；

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， $1mol=10^9nmol$ ；

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 0.3 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。