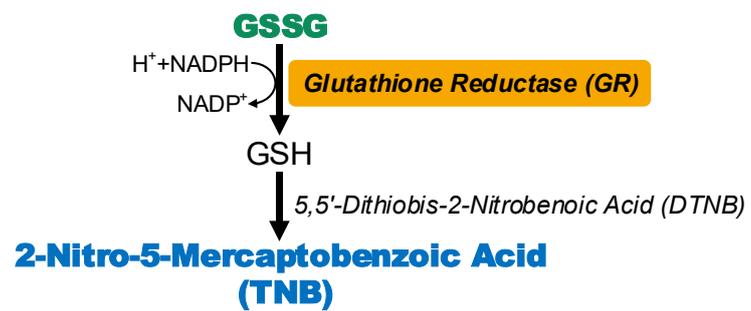




谷胱甘肽还原酶活性系数 (GRAC) 检测试剂盒

Glutathione Reductase Activation Coefficient (GRAC) Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



谷胱甘肽还原酶活性系数 (GRAC) 检测试剂盒

Glutathione Reductase Activation Coefficient (GRAC) Assay Kit

一、产品描述

谷胱甘肽还原酶 (Glutathione Reductase, GR) 是广泛存在于真核和原核生物中的黄素蛋白氧化还原酶。GR 以核黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD) 为辅基, 催化 NADPH 将氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 还原为还原型谷胱甘肽 (GSH)。GRAC 是加入 FAD 前后 GR 的活性比值, 机体核黄素缺乏时, FAD 含量下降, GR 活性降低, 加入外源 FAD 后活性恢复, GRAC 升高, 常用于评价体内核黄素状态。

GR 催化 GSSG 与 NADPH 反应生成 GSH, GSH 与 5,5'-二硫代-双-(2-硝基苯甲酸) (5,5'-Dithiobis-2-Nitrobenoic Acid, DTNB) 反应生成黄色的 2-硝基-5-巯基苯甲酸, 产物在 412 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征谷胱甘肽还原酶活性系数水平。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一		液体 65 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二		粉剂×1 支	4°C 保存	使用前加入 1.2 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存 1 个月)
试剂三	组分 A	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前组分 A 加入 537 μL 组分 B 充分溶解 (分装后 -20°C 可保存 1 个月, 避免反复冻融)
	组分 B	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	
试剂四		液体 1.2 mL×1 支	4°C 保存	-
试剂五		粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 1.2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后 -20°C 可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂六		液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂七		液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (g): 试剂一体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 试剂一) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 12000 g 离心 10 min, 取上清液置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,按照细菌或细胞数量(10^4 个):试剂一体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议500万细菌或细胞加入1 mL试剂一)处理样品,冰浴超声破碎(功率200 W,超声3 s,间隔7 s,总时间3 min),4°C 12000 g离心10 min,取上清液置于冰上待测。

③全血/红细胞:按照全血/红细胞体积(μL):试剂一体积(μL)为1:99的比例(建议吸取10 μL 全血/红细胞,加入990 μL 试剂一)处理样品,充分溶血混匀,4°C 12000 g离心10 min,取上清液置于冰上待测。

④血清(浆)等液体样本:直接检测或适当稀释后再进行检测。注:若液体样本浑浊,建议4°C 12000 g离心10 min,取上清液置于冰上待测。

2.测定步骤

①酶标仪预热30 min以上,调节波长至412 nm。

②检测工作液的制备(现用现配):使用前根据使用量按试剂一:试剂二:试剂三:试剂四=20:5:2:5的体积比配制。

③试剂五应用液的制备(现用现配):使用前根据使用量按试剂五:蒸馏水=1:19的体积比配制。

④试验前将检测工作液置于37°C预热10 min以上。

⑤在离心管中依次加入下列试剂:

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	60	60	-
蒸馏水	-	10	60
检测工作液	64	64	64
试剂五应用液	10	-	10
充分混匀,37°C准确反应30 min			
试剂六	160	160	160
充分混匀,4000 g 常温离心10 min,取上清液			
上清液	60	60	60
试剂七	200	200	200
充分混匀,室温静置5 min			

吸光值测定:吸取200 μL 反应液至96孔板中,测定412 nm处吸光值,记为A测定、A对照和A空白;计算 ΔA 测定=A测定-A空白, ΔA 对照=A对照-A空白。注:每个样本均需设一个对照管,空白管只需测定1-2次。

3.谷胱甘肽还原酶活性系数（GRAC）计算

$$\text{谷胱甘肽还原酶活性系数 (GRAC)} = \frac{\Delta A \text{ 测定}}{\Delta A \text{ 对照}}$$

四、注意事项

- ①优先使用核黄素水平正常的样本进行测定，以直观比较核黄素缺乏样本的 GRAC 值；若缺乏正常样本，可参考核黄素水平正常的样本，其 GRAC 值通常在 0.9-1.2 的范围内；
- ②试剂一中含有约 0.11 mg/mL 蛋白，测定样本蛋白含量后需减去试剂一自身的蛋白含量；
- ③若 ΔA 测定大于 1.5，建议将粗酶液使用**试剂一**适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.05，建议制备更高浓度的样本后再进行测定，计算时相应修改；
- ④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

