

谷胱甘肽还原酶活性系数测试盒

(货号: BC044 GRAC 100T/48 样)

一、试剂组成及配制:

- 试剂一:** 缓冲液, 32mL×1 瓶, 4°C 保存。
- 试剂二:** 底物贮备液, 0.22mL×1 瓶, -20°C 避光保存。
底物稀释液, 2.2 mL×1 瓶, -20°C 保存。
- 底物应用液的配制:** 临用前按底物贮备液: 底物稀释液=1:9 的比例 10 倍稀释, 制备成底物应用液, 用不完的应用液三天内 4°C 保存, 三天以上-20°C 保存。
- 试剂三:** 基质粉剂×2 支, -20°C 避光保存。
基质稀释液, 2.5mL×2 瓶, -20°C 保存。
- 基质应用液的配制:** 临用前将 1 支基质粉剂加入到 1 瓶基质稀释液中充分溶解, 制备成基质应用液, 用不完的应用液三天内 4°C 保存, 三天以上-20°C 保存。
- 试剂四:** 促进剂粉剂×2 支, -20°C 避光保存。
促进剂稀释液, 1.3mL×2 瓶, -20°C 保存。
- 促进剂应用液配制:** 临用前将 1 支促进剂粉剂加入到 1 瓶促进剂稀释液中充分溶解, 制备成促进剂应用液, 用不完的应用液三天内 4°C 保存, 三天以上-20°C 保存。
- 试剂五:** 沉淀剂, 40mL×2 瓶, 4°C 保存。
- 试剂六:** 显色剂粉剂×2 支, 4°C 避光保存。
显色剂稀释液, 50mL×2 瓶, 4°C 避光保存。
- 显色剂应用液的配制:** 临用前将 1 支显色剂粉剂加入到 1 瓶显色剂稀释液中充分溶解, 制备成显色剂应用液, 4°C 避光保存。

二、操作步骤:

	空白管	测定管	测定空白管
双蒸水 (μL)	270		
待测样本 (μL)		300	300
试剂一 (μL)	300	250	300
试剂二 (μL)		20	20
试剂三 (μL)	50	50	50
试剂四 (μL)	50	50	
37°C 孵育 30 分钟			
试剂五 (μL)	800	800	800
混匀, 4000 转/分离心 10 分钟			
上清液 (μL)	300	300	300
试剂六 (μL)	1000	1000	1000

混匀, 静置5分钟, 420nm 波长, 0.5cm 光径比色皿, 双蒸水调零, 测各管吸光度 OD 值。

[注]: * 空白管很稳定, 只需做 1~2 只。

** 样本前处理见附录。

三、计算公式:

$$\text{谷胱甘肽还原酶活性系数 (GRAC)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{测定空白}} - A_{\text{空白}}}$$

四、测定原理:

谷胱甘肽还原酶 (GR) 在有还原型辅酶 II 存在的条件下, 可催化氧化型谷胱甘肽

地址: 武汉市东湖新技术开发区高科园二路盛齐安生物产业园 4 号楼



(GSSG) 还原为还原型谷胱甘肽 (GSH)，该酶的辅基为黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD)。因此，当核黄素缺乏而导致FAD不足时，则可使此酶的活性下降。通过测定谷胱甘肽还原酶活性系数来评价机体核黄素的营养状况。

五、检测意义：

核黄素在体内以FAD的形式与酶蛋白结合成各种黄素蛋白，作为电子转移系统参与氧化还原过程。核黄素缺乏时，产生皮肤、粘膜和眼部等一系列的症状。为了早期发现核黄素缺乏，及时采取防治措施，有必要进行核黄素营养状况的评定。

核黄素缺乏时，谷胱甘肽活性系数迅速增高，而补充核黄素后就降为正常。故谷胱甘肽还原酶活性系数 (Glutathione Reductase Activation Coefficient, GRAC) 是评定核黄素慢性缺乏时体内核黄素总水平的准确指标。应用谷胱甘肽还原酶活性系数 (GRAC) 的值评价核黄素营养状况具有灵敏、稳定、准确、微量、能反映体内代谢利用情况等优点。



附录 I：全血中谷胱甘肽还原酶活性系数的测定

一、样本前处理：

取新鲜全血样本 10 μ L 加入双蒸水 990 μ L，漩涡混匀 1 分钟使溶血，制备成 100 倍稀释的溶血液按前 I an 的操作表加样。（对光看一下是否透亮，若不透亮，有浑浊，则 4000 转/分，离心 5 分钟，取上清液测定即可）

二、计算举例：

取鸡全血样本 10 μ L 加入提取液 990 μ L，漩涡混匀 1 分钟使溶血，制备成 100 倍稀释的溶血液，再取 100 倍稀释溶血液进行测定，测得空白管吸光度为 0.038，测定管吸光度为 0.085，测定空白管吸光度为 0.046，则计算结果为：

$$\text{谷胱甘肽还原酶活性系数 (GRAC)} = \frac{0.085 - 0.038}{0.046 - 0.038} = 5.875$$

附录 II：血清中谷胱甘肽还原酶活性系数的测定

一、样本前处理：

取血清样本 200 μ L 加入 600 μ L 生理盐水，即按 1:3 进行稀释后按操作表加样。

二、计算举例：

取鸡血清样本 200 μ L 加入 600 μ L 生理盐水，即按 1:3 进行稀释后进行测定，测得空白管吸光度为 0.038，测定管吸光度为 0.088，测定空白管吸光度为 0.042，则计算结果为：

$$\text{谷胱甘肽还原酶活性系数 (GRAC)} = \frac{0.088 - 0.038}{0.042 - 0.038} = 12.50$$

附录 III：组织中谷胱甘肽还原酶活性系数的测定

一、样本前处理：

准确称取组织重量，按重量 (g) : 体积 (mL) = 1:9 的比例，加入 9 倍体积的生理盐水，冰水条件下制备成 10% 的组织匀浆，3500 转/分，离心 10 分钟，取上清液，再用生理盐水 5 倍稀释后制备成 2% 组织上清液按操作表加样。

二、计算举例：

取大鼠肝组织样本，用生理盐水制备成 10% 的匀浆，离心取上清液，再用生理盐水按 1:4 的比例，即 5 倍稀释为 2% 的匀浆液进行测定，测得空白管吸光度为 0.038，测定管吸光度为 0.141，测定空白管吸光度为 0.062，则计算结果为：

$$\text{谷胱甘肽还原酶活性系数 (GRAC)} = \frac{0.141 - 0.038}{0.062 - 0.038} = 4.29$$

