



谷胱甘肽还原酶活性系数测试盒说明书(精简版)

(货号: A104-1-1 GRAC 100T/48 样)

一、试剂组成及配制:

试剂一: 缓冲液, 32mL×1 瓶, 4℃ 保存。

试剂二: 底物贮备液, 0.22mL×1 瓶, -20℃ 避光保存。

底物稀释液, 2.2 mL×1 瓶, -20℃ 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℃ 保存, 三天以上-20℃ 保存。

试剂三: 基质粉剂×2 支, -20℃ 避光保存。

基质稀释液, 2.5mL×2 瓶, -20℃ 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℃ 保存, 三天以上-20℃ 保存。

试剂四: 促进剂粉剂×2 支, -20℃ 避光保存。

促进剂稀释液, 1.3mL×2 瓶, -20℃ 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℃ 保存, 三天以上-20℃ 保存。

试剂五: 沉淀剂, 40mL×2 瓶, 4℃ 保存。

试剂六: 显色剂粉剂×2 支, 4℃ 避光保存。

显色剂稀释液, 50mL×2 瓶, 4℃ 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℃ 避光保存。

二、所需仪器耗材及试剂:

含 420nm 波长的可见分光光度计及 0.5cm 光径比色皿、37℃ 水浴锅或恒温箱、沸水浴锅、台式低速离心机、各种规格移液器、双蒸水、生理盐水(0.9%)、涡旋混匀器、试管或离心管、蛋白测定试剂(本公司有售)。

三、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℃ 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。

四、计算公式:

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

五、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 (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。

六、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。