

还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0246	还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量检测试剂盒 (微量法)	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 × 1 瓶	4℃
试剂三	液体 × 1 瓶	4℃, 避光

一、产品说明

GSH 是细胞内最主要的抗氧化巯基物质, 在抗氧化、蛋白质巯基保护和氨基酸跨膜运输等中具有重要作用。还原型与氧化型比值 (GSH/GSSG) 是细胞氧化还原状态的主要动态指标。因此, 测定细胞内 GSH 和 GSSG 含量以及 GSH/GSSG 比值, 能够很好地反映细胞所处的氧化还原状态。

DTNB 与 GSH 反应生成复合物, 在 412nm 处有特征吸收峰; 其吸光度与 GSH 含量成正比。

二、自备材料

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式低温离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品准备

- 1、组织: 按照组织质量 (g) : 试剂一体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 试剂一), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞/细菌: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 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 1mL 试剂一), 冰浴超声波破碎细菌或细胞 (功率 300W, 超声 3s, 间隔 10s, 总时间 30min); 8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、血浆/血清: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 412nm, 蒸馏水调零。
- 2、试剂二置于 25℃ (一般物种) 或者 37℃ (哺乳动物) 水浴中保温 30min。
- 3、空白管: 取微量比色皿或 96 孔板, 依次加入 20μL 蒸馏水、140μL 试剂二、40μL 试剂三, 充分混匀, 静置 2min 后测定 412nm 吸光值 A1。空白管只需要测定一次。
- 4、测定管: 取微量比色皿或 96 孔板, 依次加入 20μL 上清液、140μL 试剂二、40μL 试剂三, 充分混匀, 静置 2min 后测定 412nm 吸光值 A2。

五、含量的计算

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下:

GSH 标准曲线公式: $y=0.75x$ (x 为 GSH 浓度, $\mu\text{mol}/\text{mL}$; y 为吸光值)。

1、按照组织蛋白浓度计算

$\text{GSH } (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = (A2 - A1) \div 0.75 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div \text{Cpr} = 1.334 \times (A2 - A1) \div \text{Cpr}$ 。

2、按照样本鲜重计算

$\text{GSH } (\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) = (A2 - A1) \div 0.75 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 1.334 \times (A2 - A1) \div W$ 。

3、按照细菌/细胞密度计算

$\text{GSH } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ ceLL}) = (A2 - A1) \div 0.75 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) = 1.334 \times (A2 - A1) \div \text{细胞数量}$ 。

4、按照血清/血浆体积计算

$\text{GSH } (\mu\text{mol}/\text{mL}) = (A2 - A1) \div 0.75 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 1.334 \times (A2 - A1)$ 。

$V_{\text{样总}}$: 上清液总体积, 1mL; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, $20\mu\text{L}=0.02 \text{ mL}$; Cpr : 上清液蛋白质浓度, mg/mL ; W : 样品质量, g 。

B. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下:

GSH 标准曲线公式: $y=1.5x$ (x 为 GSH 浓度, $\mu\text{mol}/\text{mL}$; y 为吸光值)。

1、按照组织蛋白浓度计算

$\text{GSH } (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = (A2 - A1) \div 1.5 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = 0.667 \times (A2 - A1) \div \text{Cpr}$ 。

2、按照样本鲜重计算

$\text{GSH } (\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) = (A2 - A1) \div 1.5 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 0.667 \times (A2 - A1) \div W$ 。

3、按照细菌/细胞密度计算

$\text{GSH } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ ceLL}) = (A2 - A1) \div 1.5 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) = 0.667 \times (A2 - A1) \div \text{细胞数量}$ 。

4、按照血清/血浆体积计算

$\text{GSH } (\mu\text{mol}/\text{mL}) = (A2 - A1) \div 1.5 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} = 0.667 \times (A2 - A1)$ 。

$V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.2mL; $V_{\text{样总}}$: 上清液总体积, 1 mL; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, $20\mu\text{L}=0.02 \text{ mL}$; Cpr : 上清液蛋白质浓度, mg/mL ; W : 样品质量。

六、注意事项

- 1、试剂一中含有蛋白沉淀, 因此上清液不能用于测定蛋白质浓度。
- 2、试剂盒最低下限 $0.011 \text{ mmol}/\text{L}$ 。