

氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 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
YFX0248	氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 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 100mL × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 600μL × 1 瓶	4℃
试剂三	液体 50mL × 1 瓶	4℃
试剂四	液体 2.5mL × 1 瓶	4℃
试剂五	液体 600μL × 1 支: 用前加入 0.3mL 试剂三充分溶解, 4℃ 储存。	-20℃
试剂六	粉剂 × 1 瓶: 用前加入 20mL 试剂三充分溶解, 现配现用。	4℃

### 一、产品说明

GSH/GSSG 是细胞内最重要的氧化还原对之一。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, 也是谷胱甘肽氧化还原循环的主要指标之一。

本试剂盒利用 2-VP 法测 GSSG 含量。

### 二、自备材料

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、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 3min) ; 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、试剂三置于 25℃ (一般物种) 或者 37℃ (哺乳动物) 水浴中保温 30min。
- 3、取 1mL EP 管, 加入 100μL 上清液, 5μL 试剂二, 盖紧后混匀, 得混合液, 置于 37℃ 水浴 30min; 取 21μL 混合液于 96 孔板, 然后依次加入 20μL 试剂四、2μL 试剂五和 140μL 试剂六, 迅速混匀后, 测定 30s 和 150s 光吸收 A1 和 A2, 计算  $\Delta A = A2 - A1$ 。

## 五、含量的计算

### A. 用 96 孔板测定的计算公式如下:

标准条件下测定的回归方程为  $y=0.0138x-0.0011$ ;  $x$  为标准品浓度 (nmol/mL),  $y$  为吸光值( $\Delta A$ )。

1、按照组织蛋白浓度计算

$$\text{GSSG (nmol/mg prot)} = (\Delta A + 0.0011) \div 0.0138 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = 72.46 \times (\Delta A + 0.0011) \div \text{Cpr}.$$

2、按照样本鲜重计算

$$\begin{aligned} \text{GSSG (nmol/g 鲜重)} &= (\Delta A + 0.0011) \div 0.0138 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 72.46 \times (\Delta A + 0.0011) \div W. \end{aligned}$$

3、按照细菌/细胞密度计算

$$\begin{aligned} \text{GSSG (nmol/10}^4 \text{ ceLL)} &= (\Delta A + 0.0011) \div 0.0138 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \\ &= 72.46 \times (\Delta A + 0.0011) \div \text{细胞数量}. \end{aligned}$$

4、按照血清/血浆体积计算

$$\text{GSSG (nmol/mL)} = (\Delta A + 0.0011) \div 0.0138 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} = 72.46 \times (\Delta A + 0.0011).$$

$V_{\text{样}}$ : 反应中加入样本体积, 20 $\mu$ L;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $W$ : 样品质量, g,  $\text{Cpr}$ : 样本蛋白浓度 (mg/mL)。

### B. 微量石英比色皿测定的计算公式如下:

标准条件下测定的回归方程为  $y=0.0276x-0.0011$ ;  $x$  为标准品浓度 (nmol/mL),  $y$  为吸光值( $\Delta A$ )。

1、按照组织蛋白浓度计算

$$\text{GSSG (nmol/mg prot)} = (\Delta A + 0.0011) \div 0.0276 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = 36.23 \times (\Delta A + 0.0011) \div \text{Cpr}.$$

2、按照样本鲜重计算

$$\begin{aligned} \text{GSSG (nmol/g 鲜重)} &= (\Delta A + 0.0011) \div 0.0276 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 36.23 \times (\Delta A + 0.0011) \div W. \end{aligned}$$

3、按照细菌/细胞密度计算

$$\begin{aligned} \text{GSSG (nmol/10}^4 \text{ ceLL)} &= (\Delta A + 0.0011) \div 0.0276 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \\ &= 36.23 \times (\Delta A + 0.0011) \div \text{细胞数量}. \end{aligned}$$

4、按照血清/血浆体积计算

$$\text{GSSG (nmol/mL)} = (\Delta A + 0.0011) \div 0.0276 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} = 36.23 \times (\Delta A + 0.0011).$$

$V_{\text{样}}$ : 反应中加入样本体积, 20 $\mu$ L;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $W$ : 样品质量, g,  $\text{Cpr}$ : 样本蛋白浓度 (mg/mL)。

## 六、注意事项

- 1、提取过程中去掉蛋白质, 所以提取液不能用于测定蛋白含量
- 2、临用前配制的试剂配好后 4 $^{\circ}$ C 保存, 2 天内使用完毕。最低检出限为 0.1 $\mu$ mol/L。
- 3、反应温度严格来说, 为保证重复性, 应在 25 $^{\circ}$ C 下进行反应。
- 4、反应时间需精确控制, 否则会影响反应速率计算, 产生较大误差。
- 5、样品中的 GSSG 浓度尽可能低一些, 否则反应速率太大, 没法控制, 所以稀释倍数要尽量大些。