

还原型谷胱甘肽（GSH）检测试剂盒（DTNB比色法）

产品货号：BA1616

产品规格：100T

产品简介：

谷胱甘肽(glutathione, GSH)广泛存在于动物组织、植物组织、微生物和酵母中,参与组织细胞的许多功能活动,能够帮助保持正常的免疫系统功能,是一种氧自由基消除剂,保护组织细胞免受氧化损伤,并具有抗氧化作用和整合解毒作用。还原型谷胱甘肽(GSH)是一种由谷氨酸(Glu)、半胱氨酸(Cys)和甘氨酸(Gly)残基组成的含 γ -酰胺键和巯基(-SH)的天然三肽,相对分子量为307,半胱氨酸上的巯基为其活性基团,常简称为G-SH或GSH。GSH与某些药物(如扑热息痛)、毒素(如自由基、碘乙酸、铅、汞、砷等)等结合,具有整合解毒作用,在延缓衰老、增强免疫力、抗肿瘤等功能性食品广泛应用。谷胱甘肽是研究活性氧和自由基的重要指标,亦是机体氧化物牵累的重要指标。还原型谷胱甘肽(GSH)能可逆的转变成为氧化型谷胱甘肽(GSSG),其存在形式会随着细胞内代谢的情况而发生相互转变。

还原型谷胱甘肽(GSH)检测试剂盒(DTNB比色法)(Glutathione Assay Kit)是一种简单易行的检测还原型谷胱甘肽的试剂盒,其检测原理是待测样品中的还原型谷胱甘肽(GSH)与发色底物DTNB反应,产生稳定黄色的TNB和GSSG,通过分光光度法(分光光度计)测定412nm处吸光度,与相应处理的GSH标准比较,获得样品的GSH含量。该试剂盒可用于检测植物组织、血浆、血清、动物组织、培养细胞等样品中还原型谷胱甘肽的含量。本产品仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件
试剂(A): GSH标准(1mM)	1ml	4°C, 避光
试剂(B): GSH提取液(3×)	100ml	室温
试剂(C): GSH Assay Buffer	100ml	室温
试剂(D): DTNB	80mg	4°C
试剂(E): DTNB稀释液	100ml	室温

自备材料：

1. 蒸馏水或去离子水、PBS 或生理盐水
2. 电子天平、匀浆器或研钵
3. 低温离心机、离心管或小试管
4. 水浴锅或恒温箱、分光光度计、比色皿

操作步骤 (仅供参考)：

1. 配制GSH提取液(1×): 取一份GSH提取液(3×)加入2份去离子水,即成。
2. 配制DTNB显色液: 量取25ml DTNB稀释液,将40mg DTNB加入稀释液中并充分溶解,即为DTNB显色液。也可以用精密天平称取DTNB粉末,配成终浓度为1.6%的DTNB显色液。配制好的DTNB显色液宜4°C保存,建议1个月内用完,最好现用现配。
3. 配制GSH标准梯度并制作标准曲线: 将GSH标准(1mM)用去离子水稀释成0.1mM的GSH标准溶液即GSH标准(100 μ M),然后按下表依次加入去离子水、GSH Assay Buffer和DTNB显色液,混匀,25°C保温反应10min。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

以0号管调零，用酶标仪412nm测定各管吸光度值。以还原型谷胱甘肽(GSH)的浓度(μM)为横坐标，以吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

项目(ml)	管号					
	0	1	2	3	4	5
GSH 标准($100\mu\text{M}$)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
去离子水	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0
GSH Assay Buffer	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
DTNB 显色液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
相当于 GSH 的浓度(μM)	0	20	40	60	80	100

4. 准备样品:

①植物组织样品: 称取1g样品于研钵中, 加入1~2ml经4℃预冷的GSH提取液($1\times$), 在冰浴条件下研磨匀浆后, 于4℃ 12000r/min离心20min, 收集上清液, 用于GSH测定, 并记录上清液总体积。

②动物组织样品: 称取0.2g样品于研钵中, 加入1ml经4℃预冷的GSH提取液($1\times$), 在冰浴条件下研磨匀浆后, 于4℃ 12000r/min离心20min, 收集上清液, 用于GSH测定, 并记录上清液总体积。也可以用液氮研磨匀浆。

③红细胞或血浆样品: 取新鲜血液, 600r/min离心10min, 沉淀为红细胞, 上清为血浆。对于红细胞, 用PBS洗涤两次, 取约50 μl 红细胞沉淀或血浆, 加入50 μl GSH提取液($1\times$), 充分Vortex振匀。冰浴放置30min, 4℃ 12000r/min离心20min, 收集上清液, 用于GSH测定。对于处理好的红细胞样品最后需用GSH提取液稀释10倍后再进行测定, 而对于血浆样品, 应直接取样测定。

④细胞样品: PBS洗涤细胞1次, 离心收集细胞, 吸尽上清, 加入细胞沉淀3倍体积的GSH提取液($1\times$), 充分Vortex振匀(收集细胞前后分别对离心管进行称重, 从而就可以计算出细胞沉淀的重量, 10mg细胞沉淀的体积可以粗略地看做10 μl), 对样品进行快速的冻融后, 4℃或冰上孵育5min, 4℃ 12000r/min离心20min, 收集上清液, 用于GSH测定。

5. GSH加样及检测: 取5ml一次性离心管, 按照下表顺序依次加入试剂, 混匀, 并注意避免产生气泡, 25℃保温反应10min。1cm比色杯, 以空白孔调零, 用分光光度计412nm测定各管吸光度值。如果样品中的GSH浓度过高, 可减少样品用量或用GSH提取液($1\times$)适当稀释后再进行测定。

加入物(ml)	空白孔	空白对照孔	样品测定孔
去离子水	1	-	-
上清液	-	1	1
GSH Assay Buffer	1	1	1
DTNB稀释液	-	0.5	-
DTNB显色液	0.5	-	0.5

计算:

根据还原型谷胱甘肽(GSH)标准曲线和样品的吸光度值(样品测定孔吸光值-空白对照孔吸光值), 可计算出样品中GSH的浓度($\mu\text{mol/L}$)和含量($\mu\text{mol/g}$)。

组织细胞样品GSH($\mu\text{mol/g}$)= $C \times V_T \times N / W$

式中: C=从标准曲线上查得的GSH浓度($\mu\text{mol/L}$)

V_T =提取液总体积(L)

W=样品质量(g)

N=稀释倍数



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

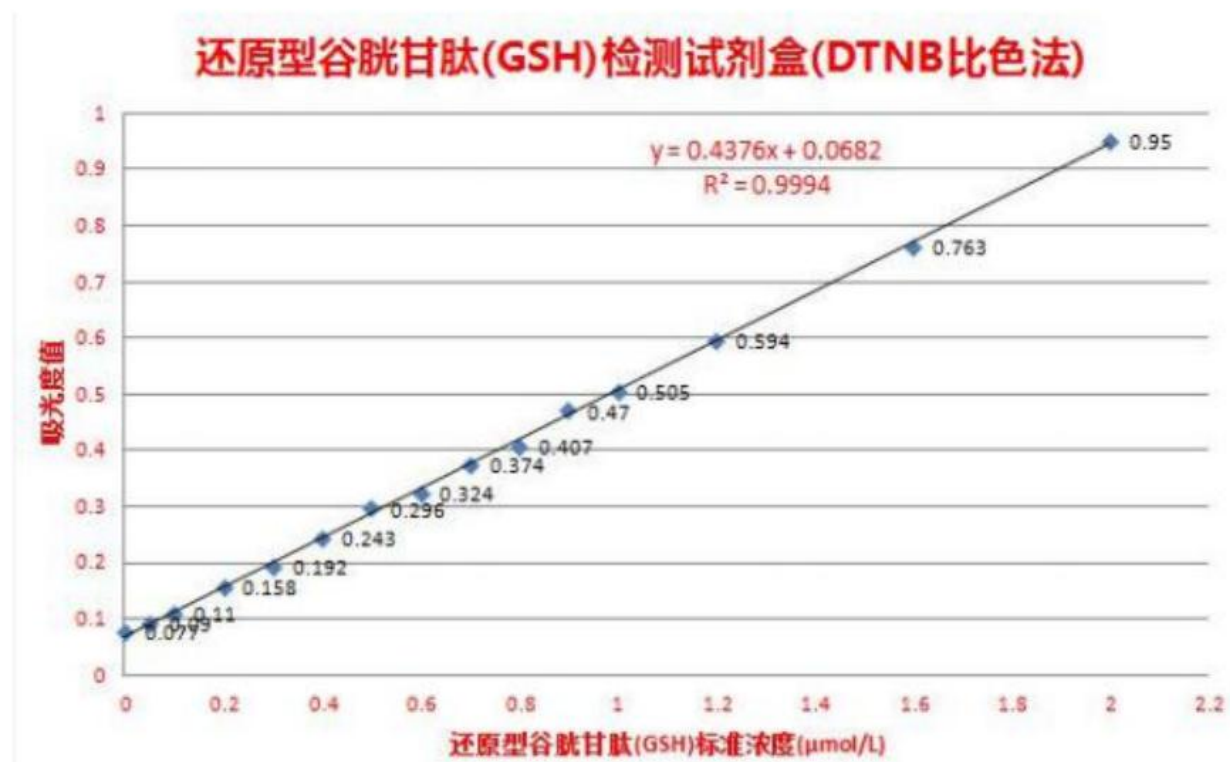
http://www.saint-bio.com

注意事项:

1. 建议第一次测定时先做2~3个样品的本底对照(空白对照), 如果样本空白对照与空白管非常接近, 则说明样品液中不存在干扰物质, 可以不再检测样本本底对照。如果样本空白对照与空白管有显著差异, 则在测定每个样本时都需要做样本空白对照。
2. GSH比较稳定, 血液样品以ACD抗凝后4℃冰箱保存, 3周内稳定。
3. 尽量使用新鲜的细胞或血液进行测定, 而不要使用冻存的细胞或血液进行测定, 避免使GSH活性下降。轻度溶血样本对GSH测定无影响。
4. 全血GSH与吸烟量、体育锻炼成正比, 与乙醇节制程度呈反比。成年人全血GSH的参考区间为 $1.02 \pm 0.17 \text{ mmol/L}$ 。
5. 动植物样品不能立即测定, 应先加入GSH提取液匀浆处理, 沉淀后去除蛋白质, 防止蛋白质所含巯基及相关酶对测定结果产生影响。处理后的提取液可放入低温冰箱-70℃保存, 但不宜超过10天。
6. 测定各管时, 各孔温度均需达到室温或25℃, 否则影响测定结果。
7. 测定时建议选用412nm, 亦可选用405~425nm。
8. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 6个月有效。4℃运输, 4℃保存。

附: 标准曲线制作: 在室温条件下按说明书操作, 系列GSH标准(0、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、160、200 $\mu\text{mol/L}$)和GSH Assay Buffer各1ml, 再加入1ml DTNB显色液, 混匀, 室温放置10min, 分别抽取280 μl 于96孔板中, 用酶标仪420nm对各管进行吸光度的测定。测定结果及标准曲线如下图所示, 仅供参考:



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>