

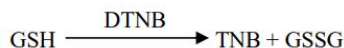
## 还原型谷胱甘肽（GSH）含量检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号: BA1154

产品规格: 50管/48样

### 产品说明:

谷胱甘肽是由谷氨酸（Glu）、半胱氨酸（Cys）和甘氨酸（Gly）组成的天然三肽，是一种含巯基（-SH）的化合物，广泛存在于动物组织、植物组织、微生物和酵母中。谷胱甘肽能和 5,5'-二硫代-双-(2-硝基苯甲酸) (5,5'-dithiobis-2-nitrobenoic acid, DTNB) 反应产生2-硝基-5-巯基苯甲酸和谷胱甘肽二硫化物(GSSG)。2-硝基-5-巯基苯甲酸为黄色产物，在波长412nm处具有最大光吸收。



### 技术指标:

最低检出限: 2.67  $\mu\text{g}/\text{mL}$

线性范围: 3.125-250  $\mu\text{g}/\text{mL}$

**注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体15mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

### 溶液的配制:

1. 标准品: 10mg还原型谷胱甘肽（GSH）。临用前加入1mL蒸馏水溶解，浓度为10mg/mL。2-8℃可以保存6周。

### 需自备的仪器和用品:

分析天平、匀浆器/研钵/细胞超声破碎仪、低温离心机、水浴锅、移液器、可见分光光度计、1mL玻璃比色皿。

### 操作步骤（仅供参考）:

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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（匀浆器提前放冰上预冷）。8000g, 4℃离心 10min, 取上清液放置于 4℃待测。若暂时不能完成测试可放于-80℃保存（可保存 3 天）。

2. 细菌、细胞: 按照细胞数量（ $10^6$  个）: 试剂一体积（mL）为 5~10: 1 的比例（建议 5 百万细胞加入 1mL 试剂一），反复冻融 2-3 次（可在液氮中冻结、37℃水浴中溶解）或者冰浴超声波破碎细胞（功率 200w, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次），8000g 离心 10 分钟，取上清置于冰上待测。若暂时不能完成测试可放于-80℃保存（可保存 10 天）。

#### 3. 血液处理

血浆: 将收集的抗凝血于 4℃, 600g 离心 10 分钟，吸取上层血浆到另一支试管中，加入等体积的试剂一，4℃, 8000g 离心 10 分钟，将上清移入新的试管中放置于 4℃待测，若暂时不能完成测试可放于-80℃保存（可保存 3 天）。

血细胞: 将收集的抗凝血于 4℃, 600g 离心 10 分钟，弃去上层血浆用 3 倍体积的 PBS 清洗 3 次（用 PBS 重悬血细胞，600g 离心 10 分钟），加入等体积试剂一，混匀后 4℃放置 10 分钟，8000g 离心 10 分钟，吸取上清放于 4℃待测，若暂时不能完成测试可放于-80℃保存（可保存 3 天）。



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

## 二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 412nm，蒸馏水调零。
2. 标准品的准备：吸取 10mg/mL 标准溶液，用蒸馏水稀释至 200 $\mu$ g/mL、100 $\mu$ g/mL、50 $\mu$ g/mL、25 $\mu$ g/mL、12.5 $\mu$ g/mL。
3. 标准品稀释表：

序号	稀释前浓度 ( $\mu$ g/mL)	标准液体积 ( $\mu$ L)	蒸馏水体积 ( $\mu$ L)	稀释后浓度 ( $\mu$ g/mL)
1	10000 (即 10mg/mL)	20	980	200
2	200	500	500	100
3	100	500	500	50
4	50	500	500	25
5	25	500	500	12.5

备注：实验中每个标准管需 100 $\mu$ L 标准溶液。

4. 加样表（在 1.5mL EP 管中分别加入下列试剂）：

试剂名称 ( $\mu$ L)	测定管	标准管	空白管
样本	100	-	-
标准溶液	-	100	-
蒸馏水	-	-	100
试剂二	700	700	700
试剂三	200	200	200

混匀后常温静置 2min 后分别测定测定管、标准管和空白管在 412nm 处的吸光度，分别记为 A 测定、A 标准和 A 空白，计算  $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。标准曲线和空白管只需做 1-2 次。

## 三、GSH 含量计算

1. 标准曲线的绘制

据标准管的浓度 ( $x$ ,  $\mu$ g/mL) 和吸光度  $\Delta A_{\text{标准}}$  ( $y$ ,  $\Delta A_{\text{标准}}$ )，建立标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A$  ( $y$ ,  $\Delta A$ ) 带入公式计算样本浓度 ( $x$ ,  $\mu$ g/mL)。

2. GSH 含量计算：

- (1) 按蛋白浓度计算

$$\text{GSH 含量 } (\mu\text{g/mg prot}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = x \div C_{\text{pr}}$$

- (2) 按样本质量计算

$$\text{GSH 含量 } (\mu\text{g/g 质量}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = x \div W$$

- (3) 按细胞数量计算

$$\text{GSH 含量 } (\mu\text{g}/10^6 \text{ cell}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times N) = x \div N$$

- (4) 按血浆（血细胞）体积计算

$$\text{GSH 含量 } (\mu\text{g/mL}) = 2x$$

V 样总：上清液总体积，1mL；V 样：加入反应体系中上清液体积，100 $\mu$ L=0.1mL；W：样本质量，g；Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL；N：细胞数量，以  $10^6$  为单位计；2：稀释倍数，血浆（血细胞）体积被稀释一倍。

### 注意事项：

1. 样本处理需匀浆完全，若当天不能完成测量，可放 -80 $^{\circ}$ C 保存。
2. 若不确定样本中 GSH 含量的高低，可稀释几个梯度后再进行测量。
3. 因为试剂一中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白浓度测定。如需测定蛋白含量，需另取组织。
4. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。



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