

还原性谷胱甘肽（GSH）含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1155

产品规格：100管/96样

产品简介：

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。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体8mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂10mg×1支	2-8℃

溶液的配制：

标准品：称1mg标准品用1mL蒸馏水溶解，浓度为1mg/mL。

技术指标：

最低检出限：3.763μg/mL

线性范围：12.5-400μg/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。

需自备的仪器和用品：

分析天平、匀浆器/研钵、低温离心机、水浴锅、移液器、可见分光光度计或酶标仪、微量玻璃比色皿或96孔板。

操作步骤：

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. 组织处理：

新鲜组织首先用PBS冲洗2次，然后称取动物组织或者植物组织0.1g，加入用试剂一润洗过的匀浆器中（匀浆器提前放冰上预冷）；然后加入1mL试剂一（组织/试剂一比例保持不变即可），迅速冰上充分研磨（使用液氮研磨效果更好）；8000rpm，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10天）。

2. 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10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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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10天）。

3. 细胞处理

收集不少于 10^6 个细胞，首先用PBS清洗细胞2次（PBS重悬细胞，600g离心10分钟），加入3倍细胞沉淀体积的试剂一重悬细胞，反复冻融2-3次（可在液氮中冻结，37℃水浴中溶解），8000g离心10分钟，收集上清于4℃待测，若暂时不能完成测试可放于-80℃保存（可保存10天）。

二、测定操作

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至412nm，蒸馏水调零。

2. 试剂二放置37℃（哺乳动物）或25℃（一般物种）水浴中保温30min。

3. 空白管检测：取微量玻璃比色皿，依次加入20μL蒸馏水，140μL试剂二，40μL试剂三，混匀，放置2min后测定412nm吸光度A1。

4. 制作标准曲线

取适当溶液配制浓度为300μg/mL、200μg/mL、100μg/mL、50μg/mL、25μg/mL的标准品（试剂一十倍稀释后进行稀释）。

取1.5mL EP管依次加入20μL标准品，140μL试剂二，40μL试剂三，每管混匀后静置2min，检测412nm处吸光度，吸光度减去空白孔（A1）为横坐标，根据吸光度（x）和浓度（y，μg/mL）做出标准曲线。

5. 样本管测定：取微量玻璃比色皿，依次加入20μL样本，140μL试剂二，40μL试剂三，混匀后静置2min检测412nm处吸光度A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。

6. 酶标仪操作同分光光度计，操作尽量迅速。

三、GSH含量计算

根据标准曲线，将样本 ΔA 带入公式中（x），计算出样本浓度y（μg/mL）。

（1）按蛋白浓度计算

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

（2）按样本质量计算

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

（3）按细胞数量计算

$$\text{GSH} (\mu\text{g}/10^6 \text{cell}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) = y \div \text{细胞数量}$$

（4）按血浆（血细胞）体积计算

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

V样总：上清液总体积，1mL；V样：加入反应体系中上清液体积，20μL=0.02mL；W：样本质量，g；Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL；细胞数量：以 10^6 为单位计量；2：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℃保存。
2. 标准品：还原型谷胱甘肽现配现用。
3. 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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com