

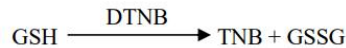
还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量检测试剂盒 (微量法)

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: 3.763 $\mu\text{g}/\text{mL}$

线性范围: 12.5-400 $\mu\text{g}/\text{mL}$

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110mL×1瓶	2-8 $^{\circ}\text{C}$
试剂二	液体20mL×1瓶	2-8 $^{\circ}\text{C}$
试剂三	液体8mL×1瓶	2-8 $^{\circ}\text{C}$
标准品	粉剂×1支	2-8 $^{\circ}\text{C}$

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 $^{\circ}\text{C}$ 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、可见分光光度计或酶标仪、微量玻璃比色皿或96孔板。

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 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10min, 取上清液放置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 待测。若暂时不能完成测试可放于-80 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 保存 (可保存 10 天)。
3. 血液处理
血浆: 将收集的抗凝血于 4 $^{\circ}\text{C}$, 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 $^{\circ}\text{C}$, 8000g 离心 10 分钟, 将上清移入新的试管中放置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 待测, 若暂时不能完成测试可放于-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存 (可保存 3 天)。
血细胞: 将收集的抗凝血于 4 $^{\circ}\text{C}$, 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 $^{\circ}\text{C}$ 放置 10 分钟, 8000g 离心 10 分钟, 吸



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

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）。

二、测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 412nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 标准品的准备: 吸取 10mg/mL 标准溶液, 用蒸馏水稀释至 300μg/mL、200μg/mL、100μg/mL、50μg/mL、25μg/mL。
3. 标准品稀释表:

序号	稀释前浓度 (μg/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (μg/mL)
1	10000 (即 10mg/mL)	30	970	300
2	300	500	250	200
3	200	200	200	100
4	100	200	200	50
5	50	200	200	25

备注: 实验中每个标准管需 20μL 标准溶液。

4. 加样表 (在 1.5mLL EP 管/96 孔板中分别加入下列试剂):

试剂名称 (μL)	测定管	标准管	空白管
样本	20	-	-
标准溶液	-	20	-
蒸馏水	-	-	20
试剂二	140	140	140
试剂三	40	40	40

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, μg/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 $\Delta A_{\text{测定}}$ (y, $\Delta A_{\text{测定}}$) 带入公式计算样本浓度 (x, μg/mL)。

2. GSH 含量计算:

- (1) 按蛋白浓度计算

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

- (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, 20μL=0.02mL; W: 样本质量, g; Cpr: 上清液蛋白质浓度, mg/mL; N: 细胞数量, 以 10⁶ 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℃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

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