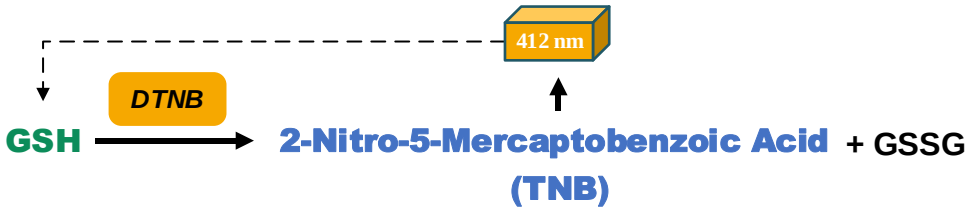
还原型谷胱甘肽（GSH）含量检测试剂盒

Reduced Glutathione (GSH) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

还原型谷胱甘肽（GSH）含量检测试剂盒

Reduced Glutathione (GSH) Content Assay Kit

一、产品描述

谷胱甘肽是一种含 γ-酰胺键和巯基的三肽，由谷氨酸、半胱氨酸及甘氨酸组成，广泛存在于动、植物组织和微生物中，在生物体内能帮助免疫系统保持正常的功能，并具有抗氧化和整合解毒的作用。谷胱甘肽有还原型（GSH）和氧化型（GSSG）两种形式，GSH 是细胞内最主要的抗氧化巯基物质，在抗氧化、蛋白质巯基保护和氨基酸跨膜运输等过程中具有重要作用，还原型与氧化型谷胱甘肽含量的比值可作为细胞氧化还原状态的主要动态评价指标。

谷胱甘肽和 5,5'-二硫代-双-（2-硝基苯甲酸）（5,5'-dithiobis-2-nitrobenoic acid，DTNB）反应生成黄色的 2-硝基-5-巯基苯甲酸和谷胱甘肽二硫化物（GSSG），2-硝基-5-巯基苯甲酸在 412 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测还原型谷胱甘肽的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	液体 120 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 6 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 （10 mg GSH 标准品）	4°C保存	**使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解** （即为 10 mg/mL GSH 标准液）
标准稀释液的制备：将 10 mg/mL GSH 标准液使用**稀释液**（将试剂一使用蒸馏水稀释十倍后作为稀释液）稀释至 400、300、200、100、50、25 μg/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μg/mL）	10000	1000	1000	1000	200	100	50
标准液体积（μL）	100	200	150	100	200	200	200
稀释液体积（μL）	900	300	350	400	200	200	200
稀释后浓度（μg/mL）	1000	400	300	200	100	50	25

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.样品处理（可根据预实验结果调整样本量及比例）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴迅速研磨至匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，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 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血浆：吸取 1 mL 抗凝血至离心管中，4℃ 600 g 离心 10 min，吸取 500 μL 上层血浆至另一支离心管中，加入 500 μL 试剂一充分混匀，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

2.测定步骤

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

②使用前将**试剂二** 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）预热 30 min。

③在 96 孔板或离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组（μL）	标准组（μL）	空白组（μL）
待测样本	20	-	-
标准稀释液	-	20	-
蒸馏水	-	-	20
试剂二	140	140	140
试剂三	40	40	40
充分混匀，室温显色 2 min			

吸光值测定：测定 412 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白，计算ΔA 测定=A 测定-A 空白，ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 400、300、200、100、50、25 μg/mL 为横坐标（x），以其对应的ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 y=kx+b，将ΔA 测定带入公式中得到 x（μg/mL）。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.还原型谷胱甘肽（GSH）含量计算

①按组织蛋白浓度计算

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

②按组织样本质量计算

$$GSH（\mu g/g）= \frac{x \times V_{样} \times V_{样总}}{W \times V_{样}} = \frac{x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$GSH（\mu g/10^4\ cell）= \frac{x \times V_{样} \times V_{样总}}{细菌或细胞数量 \times V_{样}} = \frac{x}{细菌或细胞数量}$$

④按血浆体积计算

$$GSH（\mu g/mL）= \frac{x \times（V_{液} + V_{提}）}{V_{液}} = 2 \times x$$

注释：V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.02 mL；V 样总：待测样本总体积，1 mL；V 液：血浆样本提取过程中加入待测血浆的体积，0.5 mL；V 提：血浆样本提取过程中加入试剂一的体积，0.5 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

①样品处理过程应在冰上迅速完成，待测样本未完成测定应置于-80℃保存；

②试剂一中含有蛋白质沉淀剂，待测样本不能用于蛋白浓度测定，需另取组织进行测定；

③若测定吸光值超出标准线性吸光值范围：高于最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.