

还原型谷胱甘肽 (GSH) 检测试剂盒 (微量法)

货号 : PMK1023

保存 : 4°C 避光保存 12 个月

规格 : 48T/48S 96T/96S

检测范围: 15.6 μM-1000 μM 灵敏度: 15.6 μM

适用样本: 动植物组织、细胞、血细胞、细菌、血清 (浆) 或其他液体

产品简介

谷胱甘肽是甘氨酸、谷氨酸和半胱氨酸组成的天然三肽。在红细胞中, 还原型谷胱甘肽是维持血红蛋白处于还原状态的关键, 保护细胞免受氧化损伤。GSH 是细胞中最重要的抗氧化剂巯基化合物, 在细胞抗氧化、蛋白质巯基保护和氨基酸跨膜转运中起重要作用。还原型与氧化型比值 (GSH/GSSG) 是细胞氧化还原状态的主要动态指标。测定细胞内 GSH 和 GSSG 含量以及 GSH/GSSG 比值, 能够很好地反映细胞所处的氧化还原状态。本试剂盒提供了一种简单的检测方法, 用于检测各种生物样本中 GSH 的含量。原理是 DTNB 与还原型谷胱甘肽反应生成黄色产物。在 412nm 处有最大光吸收, 与样品中还原型谷胱甘肽的浓度成正比。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4°C
反应缓冲液	10mL	20mL	4°C
显色物	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4°C 避光保存
标准品	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4°C 避光保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 412nm 处的吸光度) 及水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

制冰机、低温离心机、去离子水、匀浆器 (如果是组织样本)

试剂准备

注意: 各组分 (小管试剂) 开盖前, 请先低速离心。

提取液: 即用型; 4°C 保存。

反应缓冲液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

显色物: 使用前 96T 加入 5mL 去离子水, 48T 加 2.5mL 去离子水溶解; 4°C 避光保存。

标准品制备:

稀释提取液: 按 1:10 的比例用去离子水稀释提取液, 如: 取 300 μL 提取液 加入 2,700 μL 去离子水。

50mM GSH 标准品: 每管 GSH 标准品含 15.4mg GSH, 使用时加 1mL 稀释后的提取液得 50mM GSH 标准品, 4°C 避光保存。

1000 μM GSH 标准品: 取 20 μL 50mM GSH 标准品用 980 μL 稀释后的提取液稀释。

标准曲线设置: 使用 1000 μM GSH 标准品, 按照下表所示, 进一步稀释标准品:

	标准品体积 (μL)	稀释后的提取液体积 (μL)	标准品浓度 (μM)
Std. 1	200 μL 1000 μM	0	1000
Std. 2	100 μL of Std. 1 (1000 μM)	100	500

产品说明书

Std. 3	100 μ L of Std. 2 (500 μ M)	100	250
Std. 4	100 μ L of Std. 3 (250 μ M)	100	125
Std. 5	100 μ L of Std. 4 (125 μ M)	100	62.5
Std. 6	100 μ L of Std. 5 (62.5 μ M)	100	31.25
Std. 7	100 μ L of Std. 6 (31.25 μ M)	100	15.6

注意：每次实验，请使用新配制的标准品；配制好的标准品需要在4h之内使用。

样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。

动物组织：称取0.1g组织样本，加入1mL预冷的提取液，快速冰上匀浆。匀浆后的样本，8,000g, 4℃离心10min，取上清液，置冰上待测。

植物组织：称取0.1g植物组织剪碎，加入1mL预冷的提取液，快速冰上匀浆。匀浆后的样本冰浴超声波破碎5min（功率20%或200W，超声3s，间隔7s，重复30次）。超声后的样本，8,000g, 4℃离心10min，取上清液，置冰上待测。

血清或血浆：按常规方法收集血清，加入等体积的提取液，4℃，8,000g离心10min，取上清液，置冰上待测。将收集的抗凝血于4℃，600g离心10min，30min内吸取上层血浆到另一支试管中，加入等体积的提取液，4℃，8,000g离心10min，取上清液，置冰上待测。

血细胞：将收集的抗凝血于4℃，600g离心10min，弃去上层血浆，用PBS重悬，收集 5×10^6 个血细胞，用冷PBS清洗2次（用PBS重悬血细胞，4℃600g离心10min），加入1mL预冷的提取液，冰浴超声波破碎5min（功率20%或200W，超声3s，间隔7s，重复30次）。超声后的样本，8,000g, 4℃离心10min，取上清液，置冰上待测。

细胞或细菌：收集 5×10^6 个细胞或细菌，首先用冷PBS清洗细胞2次（用PBS重悬细胞，4℃600g离心10min），加入1mL预冷的提取液重悬细胞或细菌，冰浴超声波破碎5min（功率20%或200W，超声3s，间隔7s，重复30次）。超声后的样本，8,000g, 4℃离心10min，取上清液，置冰上待测。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热30min以上，调节波长至412nm，可见光分光光度计去离子水调零。

2. 在96孔板或微量玻璃比色皿中按照如下方式加样：

试剂(μL)	空白孔	标准孔	测定孔
样本	0	0	20
稀释后的提取液	20	0	0
标准品	0	20	0
反应缓冲液	140	140	140
显色物	40	40	40

充分混匀，37℃避光孵育10min，记录10min时的吸光度 $A_{空}$ 、 $A_{标}$ 、 $A_{测}$ 。计算 $\Delta A_{测}=A_{测}-A_{空}$ ， $\Delta A_{标}=A_{标}-A_{空}$ （空白和标准曲线只需做1次）。

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 $\Delta A_{测}$ 小于0.005可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测}$ 大于1.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以最终稀释倍数。

结果计算

1. 标准曲线的绘制

以标准品浓度为y轴， $\Delta A_{标}$ 为x轴，绘制标准曲线（浓度为y轴更方便计算结果）。

2. GSH含量的计算

将样本的 $\Delta A_{测}$ 代入方程得到y值（1 μ M=1nmol/mL）。

（1）按样本鲜重计算

$$GSH(\text{nmol/g 鲜重}) = y \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = y \div W \times n$$

产品说明书

(2) 按液体样本体积计算

$$GSH (\text{nmol/mL}) = 2 \times y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = 2y \times n$$

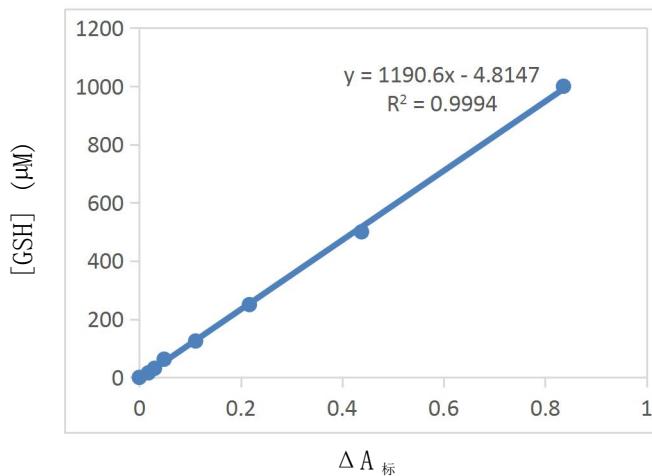
(3) 按细胞数目计算

$$GSH (\text{nmol}/10^4 \text{ cells}) = y \times V_{\text{样}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$$

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; W : 样本质量, 0.1g; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; n : 样本进一步稀释的稀释倍数; 2: 液体样本制备时的稀释倍数, 加入等体积的提取液即稀释 2 倍; 500: 细胞数量, 500 万。

结果展示

典型标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1024 氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1022 谷胱甘肽还原酶 (GR) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1027 谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1025 谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1879 GSH 和 GSSG 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

