

还原型谷胱甘肽（GSH）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1023BKM

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/48S 96T/96S

检测范围：15.6μM-1000μM 灵敏度：15.6μM

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℃
反应缓冲液	10mL	20mL	4℃
显色物	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃避光保存
标准品	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或分光光度计（能测 412nm 处的吸光度）及水浴锅
96 孔板或微量比色皿、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℃保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃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℃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℃避光保存。

1000μM 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 1000μM 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	200μL 1000μM	0	1000
Std. 2	100μL of Std. 1 (1000μM)	100	500

产品说明书

Std. 3	100μL of Std. 2 (500μM)	100	250
Std. 4	100μL of Std. 3 (250μM)	100	125
Std. 5	100μL of Std. 4 (125μM)	100	62.5
Std. 6	100μL of Std. 5 (62.5μM)	100	31.25
Std. 7	100μL of Std. 6 (31.25μM)	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

- 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 412nm，光度计去离子水调零。
- 在 96 孔板或微量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（ $1\mu\text{M} = 1\text{nmol/mL}$ ）。

（1）按样本鲜重计算

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

产品说明书

(2) 按液体样本体积计算

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

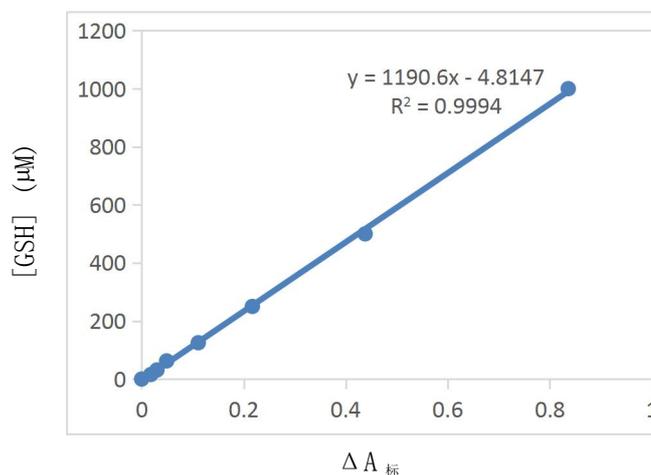
(3) 按细胞数目计算

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

$V_{\text{样}}$: 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安全规定进行实验，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：

PMK1024BKM 氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1022BKM 谷胱甘肽还原酶 (GR) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1025BKM 谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

