

Servicebio® 还原型谷胱甘肽 (GSH) 检测试剂盒

目录号: G4305

产品信息

产品名称	产品编号	规格
还原型谷胱甘肽 (GSH) 检测试剂盒	G4305-48T	48T
	G4305-96T	96T

产品描述

谷胱甘肽 (谷氨酰-半胱氨酰-甘氨酸) 是一种由 3 个氨基酸残基组成的小肽, 广泛存在于机体中。谷胱甘肽以还原型谷胱甘肽 (GSH) 和氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 两种不同的形式存在, 并且可以在一定条件下互相转换。GSH 是动物细胞中重要的抗氧化剂, 且是绝大多数细胞巯基的主要来源。在生理条件下, 由于 GSSG 会被谷胱甘肽还原酶酶促还原, 因此, GSH 是机体内主要存在形式。

本试剂盒根据还原型谷胱甘肽可与 DTNB 反应产生 TNB 和 GSSG 的原理, TNB 是一种黄色产物, 通过测量其在 412 nm 的吸光度, 就能有效确定样品 GSH 含量。



储存与运输

冰袋运输; -20°C 避光保存, 6 个月有效。

试剂盒组成

Component Number	Component	G4305-48T	G4305-96T
G4305-1	蛋白去除试剂	10 mL	20 mL
G4305-2	谷胱甘肽标准品 (GSH 粉末)	1 支	2 支
G4305-3	还原型谷胱甘肽检测缓冲液	5 mL	10 mL
G4305-4	检测探针	50 μ L	100 μ L

操作步骤

1. 样品准备:

1.1. 样品前处理

- 1.1.1. 血浆、血清样品: 加入等体积的蛋白去除试剂, 充分混匀; 4°C, 10000 g 离心 10-15 min, 取上清用于后续还原型谷胱甘肽检测;
- 1.1.2. 组织样品: 添加蛋白去除试剂到组织中进行匀浆裂解 (重量g: 体积mL为 1: 9); 匀浆裂解后, 4°C, 10000 g 离心 10-15 min, 取上清用于后续还原型谷胱甘肽检测;
- 1.1.3. 细胞样品: 细胞收集后, 使用蛋白去除试剂重悬细胞, 大约每 1×10^7 个细胞加 100-200 μ L 试剂, 对其进行超声或冰上裂解; 处理后, 4°C, 10000 g 离心 10-15 min, 取上清用于后续还原型谷胱甘肽检测;

注意: 由于高浓度蛋白去除试剂会影响检测, 上述样品建议使用超纯水稀释后用于后续检测, 确保蛋白去除试剂最终含量不高于 10%。

1.2. 标准品配置和准备:

- 1.2.1. 谷胱甘肽标准品 (GSH 粉末) 在低速离心机离心, 确保粉末都在管底; 使用 500 μ L 无菌超纯水溶解, 配制还原型谷胱甘肽标准品 (1 mmol/L), 建议分装后 -20°C 保存, 1 个月内用完;
- 1.2.2. 蛋白去除试剂和超纯水 1: 9 的比例进行混合, 并用其对还原型谷胱甘肽标准品 (1

mmol/L) 进行梯度稀释 (例如可设置为 50/25/12.5/6.25/3.125 μmol/L), 与待测样品进行后续检测后, 用于标准曲线法数据分析。

2. 还原型谷胱甘肽检测:

- 2.1. 将检测探针和超纯水 1: 19 混合配置成**检测探针工作液** (建议现配现用);
- 2.2. 参考下表进行还原型谷胱甘肽检测;

	标准管	空白管	样品管
还原型谷胱甘肽标准品	100 μL		
PBS或水		100 μL	
待测样品			100 μL
还原型谷胱甘肽检测缓冲液	100 μL	100 μL	100 μL
检测探针工作液	20 μL	20 μL	20 μL
震板 1 min, 室温 (25°C) 孵育 5 min, 使用酶标仪检测 412 nm处吸光度			

3. 数据分析:

3.1. 标准曲线法:

- 3.1.1. 根据梯度稀释的标准组值-空白组值数据使用Excel等软件绘制标准曲线: $Y = aX + b$;
- 3.1.2. 样品还原型谷胱甘肽含量计算:

$$\text{单位血清样品GSH含量}(\mu\text{mol/L}) = (\Delta A - b) \div a \times 2^* \times f$$

$$\text{单位组织样品GSH含量}(\mu\text{mol/kg}) = (\Delta A - b) \div a \times V \div m \times f$$

$$\text{单位细胞样品GSH含量}(\mu\text{mol}/10^9 \text{ cell}) = (\Delta A - b) \div a \times V \div n \times f$$

Y为标准组值-空白组值; X为还原型谷胱甘肽含量; a为标准曲线斜率; b为标准曲线截距; ΔA为: 样品组值-空白组值; 2^{*}为血清和蛋白去除试剂混合后稀释的倍数; V为匀浆裂解组织或细胞使用的蛋白去除试剂的体积 (mL); m为组织湿重 (g); n为细胞量 (10⁶个); f为稀释倍数。

3.2. 标准品换算法:

$$\text{单位血清GSH含量}(\mu\text{mol/L}) = \Delta A / \Delta A1 \times \text{标准管浓度} \times 2^*$$

$$\text{单位组织GSH含量}(\mu\text{mol/kg鲜重}) = \Delta A / \Delta A1 \times \text{标准管浓度} \times V \text{样总}(0.9\text{ml}) / W(0.1\text{g}) \times 2^*$$

$$\text{单位细胞样品GSH含量}(\mu\text{mol}/10^9 \text{ cell}) = \Delta A / \Delta A1 \times \text{标准管浓度} \times V(\text{mL}) / n \times 2^*$$

ΔA为: 样品组吸光值-空白组吸光值; ΔA1为: 标准管吸光值-空白组吸光值; 标准管浓度 (300 μmol/l); 2^{*}为血清和蛋白去除试剂混合后稀释的倍数。

注意事项

1. 使用前充分溶解并轻轻晃动各类试剂, 确保各成分均匀条件下使用。
2. 初次使用可视情况适当分装储存, 以避免反复冻融影响试剂性能。
3. **蛋白去除试剂**会影响匀浆后样品上清液的BCA检测。如需测定蛋白含量, 需另取同批组织。
4. 标准品换算法分析数据时, 需待测样品和标准品浓度处于试剂盒线性检测量程内; 标准曲线法分析数据时, 确保标准曲线 $R^2 > 0.99$ 。
5. 还原剂以及巯基活性化合物会严重干扰本试剂盒的测定。
6. 为了您的健康和安, 操作时请穿好实验服、戴好手套。

附录: 技术参数

检测指标	还原型谷胱甘肽含量	回收率	95-105%
样品类型	血清(浆)、组织、细胞	批内 CV	< 3%
检测灵敏度和检测范围	0.68 μmol/L; 0.68-300 μmol/L	批间 CV	< 3%

本产品仅供科研用途, 不用于临床诊断!

版本号: V3.0-202312