

还原型谷胱甘肽（GSH）含量检测试剂盒

（货号：SH3007 酶标法 96T）

一、产品简介

还原型谷胱甘肽（Reduced Glutathione, GSH）是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸组成的天然三肽，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中具有重要作用。GSH 含量的高低是衡量机体抗氧化能力大小的重要指标。

二、检测原理

本试剂盒采用 DTNB 比色法：GSH 与 5,5'-二硫代-双-（2-硝基苯甲酸）（DTNB, Ellman 试剂）反应，生成黄色的 2-硝基-5-巯基苯甲酸（TNB）和谷胱甘肽二硫化物（GSSG）。TNB 在 412 nm 波长处有特征吸收峰，在特定浓度范围内，吸光度值与 GSH 含量呈正比。通过测定 412 nm 处吸光度值，与标准曲线比较，即可计算样品中 GSH 的含量。

三、试剂盒组分与规格

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 1mL×1 瓶	4℃保存	若凝固，可在 25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。
标准品	粉体×2 支	4℃保存	若需要做标曲，则用到该试剂

四、所用到的仪器和用品

酶标仪、台式低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液器、96 孔板、匀浆器。

五、还原型谷胱甘肽（GSH）含量测定

正式实验前务必选取 2-3 个预期差异较大的样本做测定，了解本批样本情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

①组织样本：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆，在 4℃ 12000g 离心 10min，取上清待测。

【注】根据实验室条件，可限液氮研磨，再加提取液，进行冰浴匀浆；若增加样本量，可以按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10

的比例进行提取。

②细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000g 4℃离心 10min，取上清待测。

③液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测

①酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 412nm。

②在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
样本	20	20
试剂一	170	180
试剂二	10	
立即混匀，室温静置 5min 后，在 412nm 处测吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$		

六、结果计算

1、根据标准曲线，计算 ΔA 对应的标准品 GSH 浓度 C（单位为 μmol/mL）。

例如本说明书中的标准曲线为 $y = 0.6209x - 0.0028$ ，则

$C = (\Delta A + 0.0028) / 0.6209$ 。

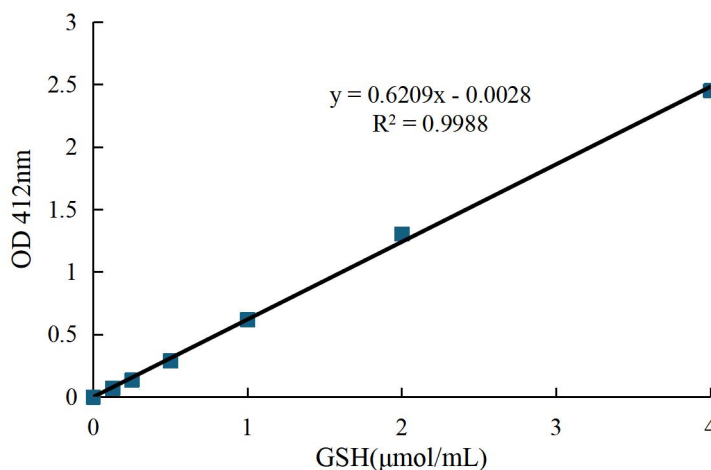


图 1 GSH 检测试剂盒的标准曲线效果图，图中数据仅供参考。

2、按照样本鲜重计算：

$$\text{GSH 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = C \times V1 \div (W \times V1 \div V) \times D$$

3、按照蛋白浓度计算：

$$\text{GSH 含量}(\mu\text{mol/mg prot}) = C \times V1 \div (V1 \times Cpr) \times D$$

4、按照细菌或细胞数量计算：

$$\text{GSH 含量}(\mu\text{mol}/10^4\text{cell}) = C \times V1 \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

5、按照液体体积计算：

$$\text{GSH 含量}(\mu\text{mol/mL}) = C \times D$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.02mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，推荐使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒（货号：AR0146）。

注意事项：上清液不能用于蛋白质浓度测定。

七、标准曲线制作

- 1、制备标准品母液（10 $\mu\text{mol/mL}$ ）：标准品溶于 0.976 mL 蒸馏水中（母液需在两天内用且-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存）。
- 2、把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0，0.1，0.2，0.4，0.8，1.6 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可以根据实际样本来调整校准品浓度。
- 3、依据测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。