还原型谷胱甘肽（GSH）含量检测试剂盒（分光光度计法）
（本试剂盒仅供科研使用）

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0245	还原型谷胱甘肽（GSH）酶活性检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 ×1 瓶	4℃
试剂二	液体 ×1 瓶	4℃
试剂三	液体 ×1 瓶	4℃，避光

一、产品说明

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中具有重要作用。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。因此，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。

DTNB 与 GSH 反应生成复合物，在 412nm 处有特征吸收峰；其吸光度与 GSH 含量成正比。

二、自备材料

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、蒸馏水。

三、样品制备

1、组织：按照组织质量（g）：试剂一体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2、细胞/细菌：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（10^4 个）：试剂一体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 2000 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一），超声波破碎细菌或细胞（功率 300W，超声 3s，间隔 7s，总时间 3min）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

3、液体：直接检测。

四、操作步骤

正式测定前，必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 412nm，蒸馏水调零。

2、试剂二置于 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）水浴中保温 30min。

3、空白管：取 1mL 玻璃比色皿，依次加入 100μL 蒸馏水、700μL 试剂二、200μL 试剂三，充分混匀，静置 2min 后测定 412nm 吸光值 A1。**空白管只需要测定一次。**

4、测定管：取 1mL 玻璃比色皿，依次加入 100μL 上清液、700μL 试剂二、200μL 试剂三，充分混匀，静置 2min 后测定 412nm 吸光值 A2。

五、GSH 含量的计算

GSH 标准曲线公式：y=1.5x（x 为 GSH 浓度，μ moL /mL；y 为吸光值）。

1、按照样本蛋白浓度计算：

GSH（μ moL/ mg prot）=(A2 – A1) ÷1.5×V 样÷（V 样×Cpr）=0.667×(A2 – A1) ÷Cpr。

2、按照样本鲜重计算：

GSH（μ moL/g 鲜重）=(A2 – A1) ÷1.5×V 样÷(V 样÷V 样总×W)=0.667×(A2 – A1) ÷W。

3、按照细胞/细菌数量计算：

GSH（μ moL /10^4 ceLL）=(A2 – A1) ÷1.5×V 样÷(V 样÷V 样总×细胞数量)
=0.667×(A2 – A1) ÷细胞数量。

4、按照液体体积计算：

GSH（μ moL/ mL）=(A2 – A1) ÷1.5 =0.667×(A2 – A1)。

V 样总：上清液总体积，1mL；V 样：加入反应体系中上清液体积，100μL=0.1mL；
Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g。

六、注意事项

1、 试剂一中含有蛋白沉淀，因此上清液不能用于测定蛋白质浓度。
2、 试剂盒最低下限 0.01mmoL/L。