

# 还原型谷胱甘肽（GSH） 检测试剂盒微板法

## 使用说明书

产品货号：BP10460W

注意：请在试剂盒保质期内使用，具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用，不能用于临床诊断。

检测范围：2-600  $\mu\text{mol/L}$

灵敏度：2  $\mu\text{mol/L}$

有效期：6个月

保存温度：2-8 $^{\circ}\text{C}$

## 检测原理:

还原型谷胱甘肽（GSH）可与二硫代二硝基苯甲酸（DTNB）反应产生硫代硝基苯甲酸和谷胱甘肽二硫化物，硫代硝基苯甲酸是一种黄色化合物，在 412nm 处，可进行比色定量测定还原型谷胱甘肽（GSH）的含量。本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法。

## 注意事项:

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

## 试剂盒组分：

试剂名称	规格（48T/40S）	规格（96T/88S）	保存条件
试剂一	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8°C，避光
试剂二	2.5mL×1 瓶	5mL×1 瓶	2-8°C
试剂三	2.5mL×1 瓶	5mL×1 瓶	2-8°C，避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C

## 所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、恒温箱、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01M，pH7.4）。

## 样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 2-600  $\mu\text{mol/L}$ , 如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩, 样本的稀释液为生理盐水 (0.9% NaCl) 或 PBS (0.01M, pH7.4)。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本**: 按照组织质量 (g): PBS (0.01 M, pH 7.4) 或生理盐水 (0.9% NaCl) 体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mLPBS (0.01 M, pH 7.4) 或生理盐水 (0.9% NaCl) 进行匀浆); 匀浆后, 4°C, 10000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。
4. **细菌、细胞样本**: 可按照细胞数量 ( $10^6$ )加入 300-500  $\mu\text{L}$  PBS (0.01M, pH 7.4) 或生理盐水 (0.9% NaCl) 进行匀浆; 10000 g, 4° C 离心 10min, 取上清待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。
5. **血清 (浆) 等液体样本**: 直接测定。若浑浊, 离心后取上清测定。

### 检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品溶液的配制:** 临用前取一瓶标准品加入 1mL 的蒸馏水溶解，配置成 10mmol/L 的标准溶液。2-8℃可以保存 6 周。取 10mmol/L 标准溶液 200 μL 加 1800 μL 蒸馏水混合均匀 1mmol/L 标准品母液。把标准品母液 (1mmol/L) 用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0、10、50、100、150、200、250、300 μmol/L。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从对应浓度的标准品溶液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度( μ mol/L)	0	10	50	100	150	200	250	300
1mmol/L 标准品( μ L)	0	10	50	100	150	200	250	300
蒸馏水( μ L)	1000	990	950	900	850	800	750	700

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准管加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

**操作步骤：**

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 412nm。
2. 样本上清制备：取 0.1mL 待测样本，加 0.1mL 试剂一，混匀，4500 g 离心 10min，取上清液待测（若上清液中含有部分沉淀物，将上清液转入新的 EP 管中，再次离心）。
3. 样本测定（在 96 孔板中依次加入）：

试剂名称(μL)	标准孔	测定孔
样本上清		100
不同浓度的标准品	100	
试剂二	50	50
试剂三	50	50
混匀，常温静置 5min 后分别检测各孔在 412nm 处的吸光度。		

### 实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$ 。

2. 按液体体积计算：

$$\text{GSH 含量 (}\mu\text{ mol/L)} = (\Delta A - b) \div a \times 2 \times N$$

3. 按样本质量计算：：

$$\text{GSH 含量 (}\mu\text{ mol/g 鲜重)} = (\Delta A - b) \div a \times 2 \times N \div W \div 1000$$

4. 按蛋白浓度计算：

$$\text{GSH 含量 (}\mu\text{ mol/gprot)} = (\Delta A - b) \div a \times 2 \times N \div \text{Cpr}$$

### 注：

y: 标准品 OD 值-空白孔 OD 值  
(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

W: 样本质量, g

$\Delta A$ : 测定孔 OD 值-空白孔 OD 值  
(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

2: 上清液制备时稀释倍数, 2 倍

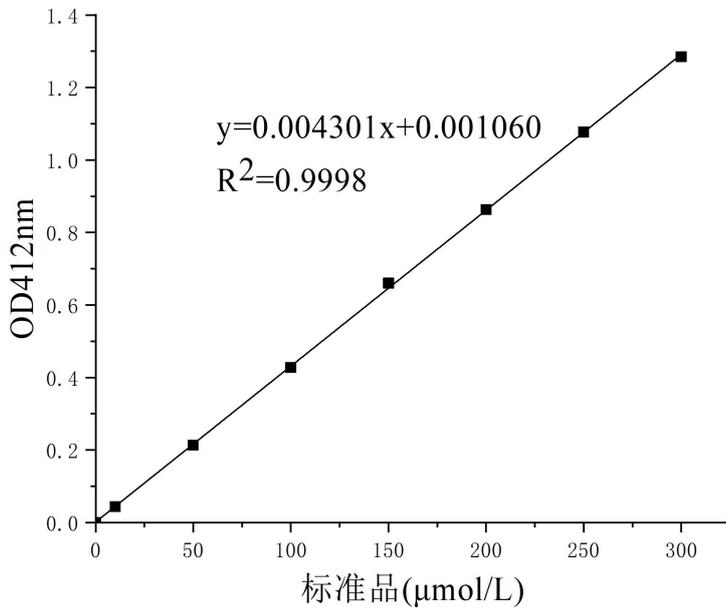
N: 样本的稀释倍数

1000: 1000mL=1L

Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL

参考曲线:

$y=0.004301x+0.001060, R^2=0.9998$ ,  $x$  是标准品的浓度 ( $\mu\text{mol/L}$ ),  $y$  是  $\Delta A$ 。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。