

## 植物氧化型谷胱甘肽（GSSG）含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHA4-M48	氧化型谷胱甘肽(GSSG) 试剂盒	48T	微量法
PYHA4-M96		96T	

### 一、测定意义：

氧化型谷胱甘肽（GSSG）是谷胱甘肽（GSH）的氧化形式，与还原型谷胱甘肽共同构成细胞内最重要的氧化还原对之一。通过测定细胞内 GSH 和 GSSG 的含量以及它们的比值（GSH/GSSG），可以很好的反应细胞所处的氧化还原状态，这是谷胱甘肽氧化还原循环的主要指标之一。

### 二、测定原理：

谷胱甘肽能和 DTNB 反应产生 2-硝基-5-巯基苯甲酸，这个反应产生的 2-硝基-5-巯基苯甲酸是一种黄色产物，在波长 412nm 处具有最大光吸收。其吸光度与 GSH 含量成正比，从而可以通过测定这个波长下的吸光度来间接测定 GSSG 的含量。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 0.3mL×1 瓶	液体 0.6mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 0.6mL×1 瓶	液体 1.2mL×1 瓶	-20℃保存
试剂三	液体 9mL×1 瓶	液体 18mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂四	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃保存
<b>试剂四的配制：</b> 临用前每支粉剂加入 0.5mL 蒸馏水，充分溶解备用。			
试剂五	液体 1mL×1 瓶	液体 2mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂六	液体 1.5mL×1 瓶	液体 2.5mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品 (10mg)	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
<b>标准液的配制：</b> 临用前取一支粉剂加入 1mL 蒸馏水溶解，充分混匀溶解。			

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 412nm，蒸馏水调零；
- 2、将 10mg/mL 标准溶液用蒸馏水稀释至 100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625μg/mL 标准液备用；
- 3、操作表（在 96 孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	标准管	空白管
样本（μL）	20	-	-
蒸馏水（μL）	-	-	20
不同浓度标准液（μL）	-	20	-
试剂一（μL）	5	5	5
试剂二（μL）	10	10	10
混匀，25℃孵育 1h			
试剂三（μL）	140	140	140
试剂四（μL）	5	5	5
试剂五（μL）	15	15	15
混匀，25℃保温 10min			
试剂六（μL）	20	20	20
加入试剂六的同时开始计时，迅速混匀，于波长 412nm 处读取 30s 和 150s 的吸光值，分别记为 A1 <sub>测定</sub> 、A1 <sub>标准</sub> 、A1 <sub>空白</sub> 和 A2 <sub>测定</sub> 、A2 <sub>标准</sub> 、A2 <sub>空白</sub> ，计算 $\Delta A_{测定}=A2_{测定}-A1_{测定}$ ， $\Delta A_{标准}=A2_{标准}-A1_{标准}$ ， $\Delta A_{空白}=A2_{空白}-A1_{空白}$ 。如果样本量过多，可将试剂三与试剂六工作液按照比例混匀配成工作液，在最后一步加入，加入工作液即开始计时。用多少配多少，现用现配。			

#### 五、氧化型谷胱甘肽（GSSG）含量计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值  $\Delta A_{\text{标准}}$  为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线  $y=kx+b$ ， $x$  为吸光度值  $\Delta A_{\text{标准}}$ ， $y$  为标准品浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )。根据标准曲线，将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入公式计算出样本浓度 ( $y$ ,  $\mu\text{g/mL}$ )；

2、按样本质量计算：

$$\text{GSSG 含量 } (\mu\text{g/g 质量}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = y \div W$$

3、按蛋白浓度计算：

$$\text{GSSG 含量 } (\mu\text{g/mg prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = y \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{样总}}$ ：上清液总体积，1 mL； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中上清液体积，

100  $\mu\text{L}$  = 0.1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量 g。

## 六、注意事项：

1. 试剂二是有毒易挥发试剂，涉及该试剂的步骤建议在通风橱中操作；
2. 若不确定样本中 GSSG 含量的高低，可稀释几个梯度后再进行检测；
3. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行检测；
4. 因为提取液中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白浓度测定。如需测定蛋白含量，需另取组织。

## 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

## 【售后微信】



## 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日