

## 还原型谷胱甘肽（GSH）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 |
|-----------|-------------------|------|------|
| AYHA3-C24 | 还原型谷胱甘肽（GSH）含量试剂盒 | 24T  | 常量法  |
| AYHA3-C48 |                   | 48T  |      |

### 一、测定意义：

谷胱甘肽是由谷氨酸（Glu）、半胱氨酸（Cys）和甘氨酸（Gly）组成的天然三肽，是一种含巯基（-SH）的化合物，广泛存在于动物组织、植物组织、微生物和酵母中。是一种重要的天然抗氧化剂，在调节氧化还原平衡、清除自由基以及参与细胞信号传导等多种途径发挥着重要的生理作用。

### 二、测定原理：

GSH 能与二硫代二硝基苯甲酸（DTNB）生成黄色的化合物，其在 412nm 处有特征吸收峰，其吸光度的变化可反应出还原型谷胱甘肽的量。

### 三、试剂组成：

| 试剂名称                                | 试剂装量（24T）    | 试剂装量（48T）    | 保存条件   |
|-------------------------------------|--------------|--------------|--------|
| 提取液                                 | 液体 30 mL×1 瓶 | 液体 60 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一                                 | 液体 25 mL×1 瓶 | 液体 50 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二                                 | 液体 10 mL×1 瓶 | 液体 15 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 标准品（10mg）                           | 粉剂×1 支       | 粉剂×2 支       | 2-8℃保存 |
| 标准品的配制：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

1、组织：按照组织质量（g）：提取液（mL）为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10<sup>4</sup> 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细

胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体：按照液体体积（mL）：提取液（mL）为 1:4 的比例（建议称取 0.1 mL 液体体积，加入 0.4 mL 提取液）充分混匀。

5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

### 测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 412nm，蒸馏水调零。

2、标准液的稀释：吸取 10mg/mL 标准溶液，用蒸馏水稀释至 200、100、50、25、12.5μg/mL，冰上备用；

3、操作表（在离心管中加入下列试剂）：

| 试剂名称                                                                                                                                                                              | 测定管 | 标准管 | 空白管 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 样本（μL）                                                                                                                                                                            | 100 | -   | -   |
| 不同浓度标准溶液（μL）                                                                                                                                                                      | -   | 100 | -   |
| 蒸馏水（μL）                                                                                                                                                                           | -   | -   | 100 |
| 试剂一（μL）                                                                                                                                                                           | 700 | 700 | 700 |
| 试剂二（μL）                                                                                                                                                                           | 200 | 200 | 200 |
| 充分混匀，常温静置 5min 后，蒸馏水调零，在波长 412nm 处读取各管吸光度值。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。标准曲线和空白管只需做 1-2 次。 |     |     |     |

### 五、还原型谷胱甘肽（GSH）含量计算

1、标准曲线的绘制：据标准管的浓度（y，μg/mL）和吸光度  $\Delta A_{\text{标准}}$ （x， $\Delta A_{\text{标准}}$ ），建立标准曲线。根据标准曲线将  $\Delta A_{\text{测定}}$ （x， $\Delta A_{\text{测定}}$ ）带入公式计算样本浓度（y，μg/mL）。

2、还原型谷胱甘肽（GSH）含量计算：

（1）按蛋白浓度计算

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

（2）按样本质量计算

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

### (3) 按液体体积计算

$$\text{GSH 含量} (\mu\text{g/mL}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{液}}) = 4 \times y$$

$V_{\text{提取}}$ : 提取液总体积, 1mL;  $V_{\text{液}}$ : 加入液体样本的体积, 100 $\mu\text{L}$ =0.1mL;

$V_{\text{样总}}$ : 液体样本提取液体积, 0.4mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入反应体系中上清液体积, 100 $\mu\text{L}$ =0.1mL; W: 样本质量, g; Cpr: 上清液蛋白质浓度, mg/mL。

### 六、注意事项:

- 1、样本处理需匀浆完全, 若当天不能完成测量, 可放-80℃保存 3 天。
- 2、若不确定样本中 GSH 含量的高低, 可稀释几个梯度后再进行测量。
- 3、因为试剂一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。
- 4、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测定。

### 【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