

# 凯基谷胱甘肽 (GSH) (除蛋白) 测定试剂盒

说明书修改日期: 2016.01.25

Cat number: KGT006

Store at 4°C for for 6 months

For Research Use Only (科研专用)

## 一. 试剂盒说明

谷胱甘肽 (GSH) 是一种低分子清除剂, 它可清除  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , LOOH。谷胱甘肽是谷氨酸。甘氨酸和半胱氨酸组成的一种三肽, 是组织中主要的非蛋白的巯基化合物, 并且是 GSH-PX 和 GST 两种酶类的底物, 为这二种酶分解氢过氧化物所必需, 它并且能稳定含巯基的酶和防止血红蛋白及其它辅因子受氧化损伤, 最近还证明 GSH 也参与使维生素 E 恢复到还原态的作用, 缺乏或耗竭 GSH 会促使许多化学物质或环境因素产生中毒作用或加重其中毒作用, 这可能与增加氧化损伤有关, 因而 GSH 的量的多少是衡量机体抗氧化能力大小的重要因素。

二硫代二硝基甲酸与巯基化合物反应时能产生一种黄色化合物, 可进行比色定量测定。

## 二. 试剂盒组份

组份	KGT006 100 assays	保存条件
试剂 A 粉末	1 瓶	室温, 6 个月效期
试剂 B	1 瓶	室温, 6 个月效期
试剂 C 粉末	1 瓶	室温
试剂 D 粉末	1 支	室温, 避光
试剂 E 粉末	4 支	室温, 避光
GSH 标准品	3.07mg*3 支	4°C, 6 个月效期
GSH 标准品储备液	10ml	4°C, 6 个月效期

### 配制方法:

试剂 A 粉末: 加 90-100°C 的热蒸馏水 170ml, 充分完全溶解;

试剂一的配置: 将已配好的试剂 A 和试剂 B 溶液混合。此为过饱和溶液, 室温静置冷却后, 如有结晶, 则取上清进行实验, 室温保存 6 个月。

试剂二: 试剂 C 粉末用时加双蒸水 100ml 溶解, 室温保存 6 个月。

试剂三: 试剂 D 粉末用时加双蒸水 25ml 溶解, 避光 4°C 保存 6 个月。

试剂四: 试剂 E 粉末用时每支加双蒸水 10ml 溶解, 避光冷藏可保存 5 天。

储备液: 双蒸水=1: 9 稀释, 即为 GSH 标准溶剂应用液, 现用现配。

1mmol/LGSH 标准溶液的配制: GSH 分子量为 307, 每次测定前将 3.07 mg 的 GSH 标准品加到 10mlGSH 的溶剂应用液中, 混匀, 现用现配。

20 $\mu$ mol/LGSH 标准溶液的配制: 取 1mmol/LGSH 标准溶液 0.2ml 加 GSH 标准溶剂应用液 9.8ml, 现用现配。

### 三. 操作步骤

#### 1. 上清液制备:

取待测样本 0.5ml, 加试剂一应用液 2ml 混匀, 3500-4000 转/分离心 10 分钟, 取上清液 1ml 进行显色反应。

#### 2. 显色反应:

	空白管	标准管	测定管
试剂一 (ml)	1.0		
20u mol/L GSH 标准 (ml)		1.0	
上清液 (ml)			1.0
试剂二 (ml)	1.25	1.25	1.25
试剂三 (ml)	0.25	0.25	0.25
试剂四 (ml)	0.05	0.05	0.05

混匀, 静置 5 分钟, 420nm 处, 1cm 光径, 蒸馏水调零比色测各管 OD 值。

#### 3. 计算与举例:

(1) 按标准管计算:

①计算公式:

$$GSH \text{含量 (gGSH/L)} = \frac{\text{测定管吸光度} - \text{空白管吸光度}}{\text{标准管吸光度} - \text{空白管吸光度}} \times \text{标准管浓度 (20mmol/L)} \times GSH \text{分子量 (307)} \times \text{稀释倍数}$$

(2) 按标准曲线法查表:

标准曲线的制作: 取 1mmol/L GSH 标准溶液 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0ml 分别置于 10ml 容量瓶中, 各加入 GSH 标准溶剂应用液至 10ml, 即得到 0, 20, 40, 60, 80, 100u mol/L 的 GSH 标准液系列, 按操作表操作, 空白管调零, 420nm 处, 1cm 光径显色, 以浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 做标准曲线, 将测定管的吸光度查曲线上相对应的浓度。

#### 四. 注意事项

1、血液中的 GSH 几乎全部存在于红细胞内, 可以用每升全血中 GSH 的克数来表示, 也可用每克 Hb 中 GSH 的含量来表示;

2、计算时应用消光系数, 故比色计要校正波长。用标准管计算较方便、准确;

3、吸取上清时, 最好用带刻度的 5ml 滴管, 或者用移液器, 避开表面的一层薄膜, 插到上清液中吸取 2ml 做显色反应;

4、最好每批试验做 2 个标准管、空白管, 以减少操作误差。

## 附录 I 全血中 GSH 的测定

### 样本前处理:

1: 9 溶血液的制备: 取 0.1ml 肝素抗凝全血加蒸馏水 0.9ml, 充分混匀, 直至透亮为止。

### 操作步骤:

上清液制备: 取 1: 9 的溶血液 0.5ml, 加试剂一 2ml 混匀, 3500-4000 转/分离心 10 分钟, 取上清液 1ml 进行显色反应。

显色反应:

	空白管	标准管	测定管
试剂一 (ml)	1.0		
20u mol/L GSH 标准 (ml)		1.0	
上清液 (ml)			1.0
试剂二 (ml)	1.25	1.25	1.25
试剂三 (ml)	0.25	0.25	0.25
试剂四 (ml)	0.05	0.05	0.05

混匀, 静置 5 分钟, 420nm 处, 1cm 光径, 蒸馏水调零比色测各管 OD 值。

### 计算公式及举例:

①计算公式:

$$\text{全血中GSH含量 (gGSH/L)} = \frac{\text{测定管吸光度} - \text{空白管吸光度}}{\text{标准管吸光度} - \text{空白管吸光度}} \times \text{标准管浓度 (20mmol/L)} \times \text{GSH分子量 (307)} \times \text{稀释倍数}$$

计算举例:

取某人 0.1ml 抗凝血全血按操作步骤进行 GSH 含量检测,测得测定管吸光度为 0.149, 标准管吸光度为 0.116, 空白管吸光度为 0.011, 同时测得全血血红蛋白为 132Hb/L, 则计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{全血中GSH含量 (gGSH/L)} &= \frac{0.149 - 0.011}{0.116 - 0.011} \times 20 \times 307 \times 10 \times 5 \div 10^6 \\ &= 0.403 \text{gGSH/L (每升全血中含 GSH0.403 克)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{全血中GSH含量 (gGSH/gHb)} &= \frac{0.149 - 0.011}{0.116 - 0.011} \times 20 \times 307 \times 10 \times 5 \div 10^6 \div 132 \\ &= 3.057 \text{mgGSH/gHb (每克血红蛋白中含 GSH3.057 毫克)} \end{aligned}$$

## 附录 II 血浆中 GSH 的测定

### 样本前处理:

直接取原液检测

### 操作步骤:

上清液制备: 取血清 0.5ml, 加试剂一应用液 2ml 混匀, 3500-4000 转/分离心 10 分钟, 取上清液 1ml 进行显色反应。

显色反应:

	空白管	标准管	测定管
试剂一 (ml)	1.0		
20 $\mu$ mol/L GSH 标准 (ml)		1.0	
上清液 (ml)			1.0
试剂二 (ml)	1.25	1.25	1.25
试剂三 (ml)	0.25	0.25	0.25
试剂四 (ml)	0.05	0.05	0.05

混匀, 静置 5 分钟, 420nm 处, 1cm 光径, 蒸馏水调零比色测各管 OD 值。

### 计算公式及举例:

①计算公式:

$$\text{血清(浆)中GSH含量 (mgGSH/L)} = \frac{\text{测定管吸光度} - \text{空白管吸光度}}{\text{标准管吸光度} - \text{空白管吸光度}} \times \text{标准管浓度 (20}\mu\text{mol/L)} \times \text{GSH分子量 (307)} \times \text{样本测试前稀释倍数}$$

②计算公式:

取某抗凝血浆 0.5ml 按操作步骤进行 GSH 含量检测, 测得测定管吸光度为 0.027, 标准管吸光度为 0.117, 空白管吸光度为 0.016, 则计算结果为:

$$\text{全血中GSH含量 (gGSH/L)} = \frac{0.027 - 0.016}{0.117 - 0.016} \times 20 \times 307 \times 5 \div 10^6$$

$$= 3.343 \text{mgGSH/L}$$

### 附录III 组织中 GSH 的测定

**样本前处理:**

组织制备匀浆请参照实验方法学

**操作步骤:**

上清液制备: 取 10%匀浆上清 0.5ml, 加试剂一应用液 2ml 混匀, 3500-4000 转/分离心 10 分钟, 取上清液 1ml 进行显色反应。

显色反应:

	空白管	标准管	测定管
试剂一 (ml)	1.0		
20u mol/L GSH 标准 (ml)		1.0	
上清液 (ml)			1.0
试剂二 (ml)	1.25	1.25	1.25
试剂三 (ml)	0.25	0.25	0.25
试剂四 (ml)	0.05	0.05	0.05

混匀, 静置 5 分钟, 420nm 处, 1cm 光径, 蒸馏水调零比色测各管 OD 值。

**计算公式及举例:**

$$\text{组织中GSH含量 (mgGSH/gprot)} = \frac{\text{测定管吸光度} - \text{空白管吸光度}}{\text{标准管吸光度} - \text{空白管吸光度}} \times \text{标准管浓度 (20mmol/L)} \times \text{GSH分子量 (307)} \div \text{待测样品匀浆蛋白含量}$$

②计算公式:

取 10%小鼠肝匀浆 0.5ml 按操作步骤进行 GSH 含量检测, 测得测定管吸光度为 0.123, 标准管吸光度为 0.117, 空白管吸光度为 0.016, 同时测得 10%小鼠肝匀浆蛋白含量为 11.257gprot/L 则计算结果

$$\text{组织中GSH含量 (mgGSH/gprot)} = \frac{0.123 - 0.016}{0.117 - 0.016} \times 20 \times 307 \times 5 \div 10^3 \div 11.257$$

$$= 2.889 \text{mgGSH/prot}$$

## 凯基相关产品（详见凯基网站 <http://www.keygentec.com.cn>）

### 细胞株、细胞提取物及细胞培养产品

- 人类肿瘤细胞株 动物肿瘤细胞株 正常细胞株 肿瘤耐药细胞株
- 细胞提取物（RNA/DNA/蛋白）
- 细胞培养相关产品

### 细胞凋亡

#### 一、细胞凋亡研究试剂盒

- Annexin V-FITC/ EGFP/PE 细胞凋亡检测试剂盒
- TUNEL 凋亡原位检测系列试剂盒
- Caspase(2、3、6、8、9)系列细胞凋亡检测试剂盒
- 线粒体膜电位检测试剂盒（JC-1）
- TRAP-PCR 端粒酶活性检测试剂盒
- DNA Ladder 检测试剂盒

#### 二、细胞凋亡相关抗体

#### 三、凋亡诱导剂、抑制剂

#### 四、氧化应激损伤检测试剂盒

#### 五、细胞凋亡研究辅助试剂

### 细胞增殖/毒性/活力与细胞周期

- 凯基细胞周期检测试剂盒
- MTT、XTT、WST-1、CCK-8 等系列细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

### 细胞染色产品

- 活细胞/凋亡细胞/坏死细胞鉴别试剂盒（AO/EB 法, 荧光显微镜）
- 凯基细胞凋亡形态学检测试剂盒
- 罗丹明 123、DAPI、PI、7-AAD、Hoechst 33258、EB、吖啶橙染色试剂盒

### 亚细胞组分制备

- 细胞核、线粒体制备试剂盒
- 细胞悬液制备试剂盒（组织消化试剂盒）