CheKine™ 还原型谷胱甘肽（GSH）含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1600　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

≠	**检测范围：**2-400 μg/mL		**灵敏度：**2 μg/mL
	适用样本：血清（浆）、动植物组织、血细胞、细胞、细菌		
	保质期：4℃，避光保存 12 个月		

01 背景与原理

谷胱甘肽是甘氨酸、谷氨酸和半胱氨酸组成的天然三肽。在红细胞中，还原型谷胱甘肽是维持血红蛋白处于还原状态的关键，保护细胞免受氧化损伤。GSH 是细胞中最重要的抗氧化剂巯基化合物，在细胞抗氧化、蛋白质巯基保护和氨基酸跨膜转运中起重要作用。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。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。

本试剂盒检测原理是还原型谷胱甘肽与 5,5-二硫双（2-硝基苯甲酸）（DTNB）反应生成 2-硝基-5-巯基苯甲酸，反应液呈黄色，测定其在 412 nm 处的吸光度值即可计算样本中 GSH 的含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	70 mL	70 mL×2	4℃
Assay Buffer	10 mL	20 mL	4℃
Chromogen	4 mL	8 mL	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×2 vials	4℃，避光保存

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 412 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS（pH 7.4）、去离子水	标准品及样本稀释用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、制冰机、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 该试剂盒提取的样本也适用于氧化型谷胱甘肽（KTB1610）的检测。因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，需另取相同样本，把提取液换成去离子水提取制备。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）进行样本蛋白质浓度测定。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Assay Buffer	即用型；使用前，平衡到室温	4℃保存
Chromogen	即用型	实验过程中避光放置；4℃避光保存。
Standard	即用型；使用前，平衡到室温	质量为 10 mg。分装避光保存于-20℃。

05-1-2 标准品配制

使用 1 mL 去离子水将质量为 10 mg 的标准品溶解为浓度 10 mg/mL 的储备液，混合均匀；平衡到室温；分装于-20℃避光保存 1 个月。取 200 µL Extraction Buffer 加入 1800 µL 去离子水配成标准品稀释液。使用标准品稀释液进一步将储备液配制为终浓度为 400 µg/mL、200 µg/mL、100 µg/mL、50 µg/mL、25 µg/mL、12.5 µg/mL、6.25 µg/mL 的标准品工作液。

标准品工作液	标准品（μL）	标准品稀释液（μL）	浓度（μg/mL）
1	20 μL10 mg/mL	480	400
2	100 μL 400 μg/mL	100	200
3	100 μL 200 μg/mL	100	100
4	100 μL 100 μg/mL	100	50
5	100 μL 50 μg/mL	100	25
6	100 μL 25 μg/mL	100	12.5
7	100 μL 12.5 μg/mL	100	6.25

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。处理好的样本须当天检测。测定过程中样本在冰上放置，以免变性和失活。

- **动物组织**：称取约 0.1 g 动物组织样本，加入 1 mL 预冷的 Extraction Buffer，冰浴匀浆，8000 g，4℃离心 10 min，取上清液于新离心管中，置冰上待检测。
- **植物组织**：称取约 0.1 g 植物组织样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎 5 min（功率 30%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 8000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **细胞或细菌**：收集 5×10^6 个细胞或细菌，用冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min 后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎 5 min（功率 30%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 8000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **血清或血浆**：将收集的抗凝血于 600 g，4℃离心 10 min，30 min 内吸取上层血浆到另一支试管中，加入等体积的 Extraction Buffer，8000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **血细胞**：将收集的抗凝血于 600 g，4℃离心 10 min，弃去上层血浆用 3 倍体积的 PBS 清洗 3 次（用 PBS 重悬血细胞，600 g，4℃离心 10 min），加入等体积 Extraction Buffer，混匀后 4℃放置 10 min，8000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 412 nm。
2. **检测体系配制**：在 96 孔板中按照如下方式操作标准曲线和空白孔一般只做 1 次。

试剂	空白孔（μL）	标准孔（μL）	测定孔（μL）
样本	0	0	20
去离子水	20	0	0
标准品工作液	0	20	0
Assay Buffer	140	140	140
Chromogen	40	40	40

3. **充分混匀，反应体系在室温下避光孵育 2 min**。
4. **吸光度检测：**在 412 nm 处读取吸光度值，分别标记为 $A_{空白}$、$A_{标准}$和 $A_{测定}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn]>进入“**技术中心**”>查找“**在线计算器**”**工具**。

06-1 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$，$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴，$\Delta A_{标准}$为 x 轴，绘制标准曲线。将$\Delta A_{测定}$代入方程得到 y 值（μg/mL）。

3. 样本 GSH 含量计算

- 按样本质量计算

GSH 含量（μg/g 鲜重）=$y\times V_{样}\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\times n=$**$y\div W\times n$**

- 按细胞或细菌数量计算:

GSH 含量（μg/10^4）=$y\div(500\div V_{样总})\times n=$**$y\div 500\times n$**

- 按液体体积计算

GSH 含量（μg/mL）=**$y\times 2\times n$**

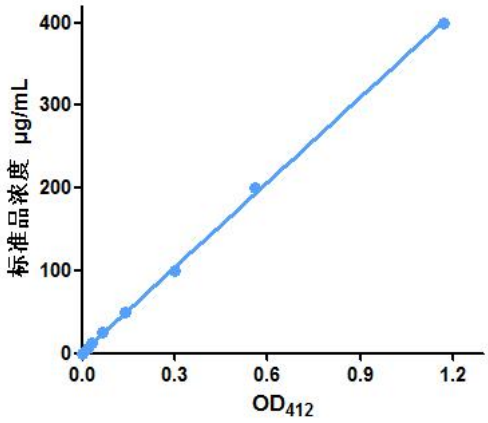
- 按蛋白浓度数量计算

GSH 含量（μg/mg prot）=$y\times V_{样}\div(V_{样}\times Cpr)\times n=$**$y\div Cpr\times n$**

$V_{样}$：加入样本，20 μL；n：样品稀释倍数；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g；$V_{样总}$：样本提取体积，1 mL；500：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位；2：提取液体时稀释一倍。

07 结果展示

典型标准曲线：$y=342.21x+1.4327$，$R^2=0.995$



示例-1：取 20 μL 小鼠血浆，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$ =0.155-0.084=0.071，代入标准曲线，计算 y=25.73。按液体体积计算得：GSH 含量（μg/mL）=**$y\times 2\times n$** =51.46 μg/mL。

08 FAQ

- **检测得到的样本$\Delta A_{测定}$过高或者过低怎么办?**

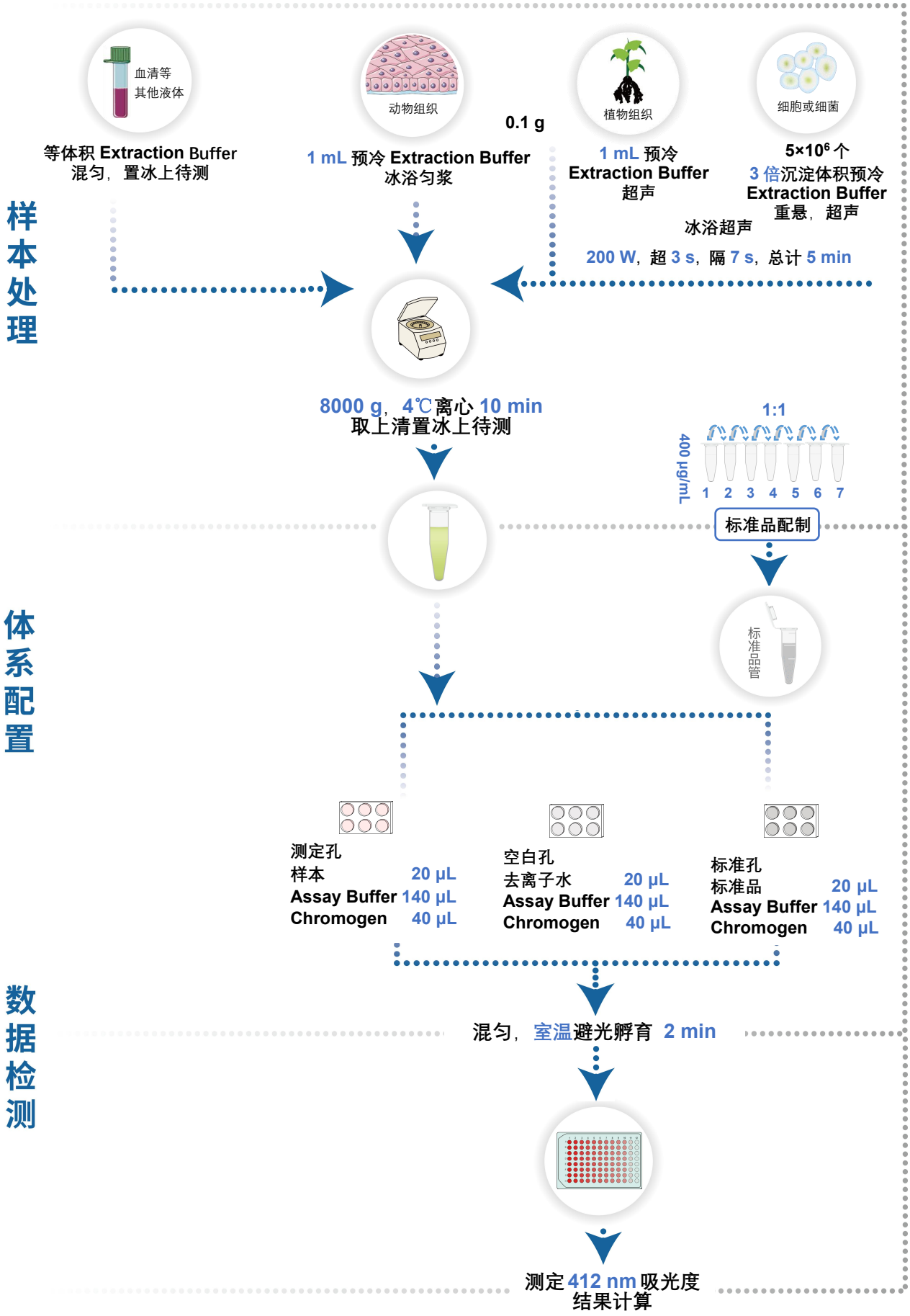
如果样本$\Delta A_{测定}$>1.2，则说明样本 GSH 含量太高，需用 Extraction Buffer 适当稀释（计算公式中乘以相应稀释倍数）。如果样本的$\Delta A_{测定}$ < 0.02，可提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1030	CheKine™ 超氧化物歧化酶（SOD）活力检测试剂盒（微量法）
KTB1510	CheKine™ 尿酸（UA）检测试剂盒（微量法）
KTB1400	CheKine™ 一氧化氮（NO）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1690	CheKine™ γ-谷氨酰转肽酶（γ-GT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1100	CheKine™ 乳酸含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 还原型谷胱甘肽（GSH）含量检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB1600）



V1.0