

氧化型谷胱甘肽(GSSG)检测试剂盒(DTNB 微板法)

产品编号: MA1515

规格: 100T

产品组成和保存/运输条件

产品组成	MA1515-1 100T	保存条件	有效期	运输条件
蛋白清除试剂	50mL	RT	自生产之日起 6 个月	湿冰运输
GSSG 标准	12.5mg	2-8℃, 避光		
GSH 清除辅助液	2.5mL	RT, 避光		
GSH 清除剂	0.5mL	-20℃, 避光		
GSSG assay buffer	100mL	RT		
NADPH	16.6mg	-20℃, 避光		
DTNB	39.6mg	2-8℃		
DMSO	8mL	RT		
GR	45μL	2-8℃, 避光		
说明书	1 份			

产品简介

谷胱甘肽(glutathione, GSH)存在于几乎身体的每一个细胞, 参与细胞许多功能活动, 是一种氧自由基消除剂。谷胱甘肽能帮助保持正常的免疫系统功能, 保护组织细胞免受氧化损伤, 并具有抗氧化作用和整合解毒作用, 半胱氨酸上的巯基为其活性基团, 故常简称为 G-SH 或 GSH。GSH 易与某些药物(如扑热息痛)、毒素(如自由基、碘乙酸、铅、汞、砷等)等结合, 具有整合解毒作用, 在延缓衰老、增强免疫力、抗肿瘤等功能性食品中广泛应用。谷胱甘肽是研究活性氧和自由基的重要指标, 亦是机体氧化应激的重要指标。还原型谷胱甘肽(GSH)是一种含γ-酰胺键和巯基的三肽, 由谷氨酸、半胱氨酸及甘氨酸组成, 能可逆的转变成为氧化型谷胱甘肽(GSSG), 其存在形式会随着细胞内代谢的情况而发生相互转变。

氧化型谷胱甘肽(GSSG)检测试剂盒(DTNB 微板法)(GSSG Assay Kit)是一种简单易行的 GSSG 检测的试剂盒, 其检测原理是谷胱甘肽还原酶(GR)把 GSSG 还原成 GSH, 由 GSSG 还原成的 GSH 和样品本身含有的 GSH 都与发色底物 DTNB 反应, 生成黄色的 TNB 和 GSSG, 总谷胱甘肽(T-GSH, GSSG+GSH)就相当于一个呈色的限速反应, T-GSH 含量决定了黄色含量, 用适当的方法先清除样品中的 GSH, 然后利用 GR 将 GSSG 还原为 GSH, 通过酶标仪法(分光光度)检测 412nm 处吸光度, 带入回归方程就可以计算出 GSSG 的量。该试剂盒可用于测定血浆、血清、植物或动物组织、细胞等样品中氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量, 亦可检测总谷胱甘肽(T-GSH)含量。

自备材料

1. 蒸馏水、PBS 或生理盐水、70%乙醇
2. 匀浆器或研钵、离心管或小试管、低温离心机、水浴锅、96 孔板、酶标仪

使用方法(仅供参考)

1. 配制 GSSG 标准储存液: 取 12.5mg GSSG 标准加入 2mL ddH₂O, 溶解并混匀, 即为 GSSG 标准储存液(10mM)。一部分立即使用, 其余适当分装后-20℃保存。



2. 配制 GSH 清除剂工作液：在 0.5ml GSH 清除剂中加入 4.5mL 70% 乙醇，溶解并混匀，即为 GSH 清除剂工作液。

3. 配制 NADPH 工作液：在 16.6mg NADPH 中加入 2mL ddH₂O，即成 NADPH 工作液，一部分立即使用，其余适当分装后-20℃保存。

4. 配制 DTNB 储存液：在 39.6mg DTNB 中加入 8mL DMSO，溶解并混匀，即为 DTNB 储存液 (12.5mM)。一部分立即使用，其余适当分装后-20℃保存。

5. 配制 GR 工作液：按 GR:GSSG assay buffer =1:49 的比例混合，即为 GR 工作液。-20℃保存，1 个月有效。

【注】GR 试剂量较少，使用前应先 4℃离心后再使用。

6. 配制标准品：把 GSSG 标准储存液(10mM)用蛋白清除试剂稀释成 50μM 标准溶液，然后依次稀释成 25、12.5、6.25、3.125μM GSSH 标准溶液，取空白、3.125、6.25、12.5、25、50μM GSSG 标准溶液 6 个点作标准曲线。【注】由于 GSSG 标准在蛋白清除试剂中不太稳定，用蛋白清除试剂配制的 GSSG 溶液必须新鲜配制后使用，不可冻存后再使用。

7. 准备样品：

① 红细胞或血浆样品：取新鲜血液，600 r/min 离心 10min，沉淀为红细胞，上清为血浆。对于红细胞，用 PBS 洗涤两次，取约 50μL 红细胞沉淀或血浆，加入 50μL 蛋白清除试剂，充分 Vortex 振匀。4℃或冰浴放置 10min，4℃ 10000 r/min 离心 10min，取上清，用于 GSSG 测定，样品需暂时 2-8℃保存备用，不立即测定的样品可以-70℃保存，但不宜超过 10 天。对于处理好的红细胞样品最后需用蛋白清除试剂稀释 10 倍后再进行后续的测定，而对于血浆样品，应直接进行测定。

② 植物或动物组织样品：取组织用液氮速冻，迅速研磨，按每 40mg 加入 100μL 蛋白清除试剂(亦可不用液氮，可直接加蛋白清除试剂至组织后匀浆或研磨)。充分 Vortex 振匀，再加入 300μL 蛋白清除试剂，用匀浆器充分匀浆。4℃孵育 10min，4℃ 10000 r/min 离心 10min，取上清，用于 GSSG 测定。样品需暂时 2-8℃保存备用，不立即测定的样品可以-70℃保存，但不宜超过 10 天，对于处理好的组织样品通常需用蛋白清除试剂进行适当稀释后再进行测定，稀释倍数通常为 5~20 倍。

③ 细胞样品：PBS 洗涤细胞 1 次，离心收集细胞，吸尽上清，加入细胞沉淀 3 倍体积的蛋白清除试剂，充分 Vortex 振匀(收集细胞前后分别对离心管进行称重，从而可以计算出细胞沉淀的重量，10mg 细胞沉淀的体积可以粗略地看作 10mL。)对样品进行快速的冻融后，4℃或冰上孵育 5min，4℃ 10000 r/min 离心 10min，取上清，用于 GSSG 测定。样品需暂时 2-8℃保存备用，不立即测定的样品可以-70℃保存，但不宜超过 10 天。对于处理好的样品通常需用蛋白清除试剂进行适当稀释后再进行测定，稀释倍数通常为 5~20 倍。

8. GSH 加样：取 EP 管，按照下表设置空白孔、标准孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的 GSSG 浓度过高，可减少用量或适当稀释后再进行测定。

加入物(μL)	空白管	标准管	测定管
蛋白清除试剂	100	50	50
系列标准品(3.125~50μM)	—	50	—
待测样品	—	—	50
GSH清除辅助液	25	25	25
GSH清除剂工作液	50	50	50



37℃孵育 30min			
GSSG assay buffer	705	705	705
NADPH工作液	20	20	20
DTNB储存液	80	80	80
37℃孵育 10min			
GR工作液	20	20	20

9. GSSG 测定：混合均匀后，室温放置 3min，取 300μL 加入 96 孔板中，用酶标仪或自动生化分析仪测定 412nm 处吸光值（OD₄₁₂），各管吸光度减去未加 GSSG 标准品溶液（即空白孔）的吸光度，以求得的差值为纵坐标；以标准孔或 EP 管中 GSSG 浓度(μM)为横坐标，得出标准曲线及回归方程，根据标准曲线计算出待测样品的 GSSG 浓度。

【注】将 GSH 清除剂换成蒸馏水，测得结果为样品中的总谷胱甘肽（T-GSH）含量。

10. 参考区间：健康成年人全血 GSSG：1.02±0.17mmol/L

注意事项

1. GR 试剂含量较少，使用前应先 4℃ 离心后再使用。
2. GSSG 比较稳定，血液样品以 ACD 抗凝后冰箱 2-8℃ 保存，3~4 周内稳定。
3. 请尽量使用新鲜的细胞或血液进行测定，不建议用冻存的细胞或血液进行测定，避免使 GSSG 活性下降。
4. 全血 GSSG 与吸烟和锻炼成正比。
5. 测定时，各孔温度均需达到室温或 25℃，否则影响结果。
6. 轻度溶血样本对 GSSG 测定无影响。
7. 所有试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
9. 本产品仅限科研实验使用，禁止用于临床、食品、化妆品等非科研场景。

S260801

大连美仑生物技术有限公司

官网：<https://www.meilunbio.com/>

电话/邮箱：0411-62910999 sales@meilun.com

本产品仅供科研使用

