

## 总谷胱甘肽-氧化型谷胱甘肽 (T-GSH/GSSG) 测试盒

微板法: 50 管

### 一、测定原理:

利用 DTNB 的循环反应, 测定组织和体液中的总谷胱甘肽和氧化型谷胱甘肽的含量。

### 二、试剂盒组成和配制:

	组份	规格	保存
试剂一	底物一粉剂	粉剂×2 支	4℃ 保存
	底物一缓冲液	10ml×2 瓶	4℃ 保存
试剂一应用液的配制: 临用前每支粉剂加入 5ml 的试剂一(底物一)缓冲液, 充分溶解后, 4℃ 避光保存			
试剂二	底物二贮备液	液体 63 μl×2 支	-20℃ 保存
	底物二稀释液	液体 1.25 μl×2 支	-20℃ 保存
试剂二应用液配制: 临用前按试剂二贮备液: 稀释液=1: 19 的比例进行稀释, 现用现配, 需多少配多少。			
试剂三	粉剂	粉剂×10 支	-20℃ 保存
	稀释液	液体 1ml×10 支	-20℃ 保存
试剂三的配制: 临用前每支粉剂加 1ml 试剂三稀释液, 充分溶解后使用, 现用现配, 需多少配多少。			
试剂四	粉剂	粉剂×6 瓶	4℃ 保存
试剂四的配制: 临用前每瓶加煮沸的双蒸水至 10ml, 充分溶解; 冷却后作匀浆介质用, 余下 4℃ 保存 3 天。			
试剂五	贮备液	30 μl×1 支	4℃ 保存
	试剂五溶剂	300 μl×1 瓶	4℃ 保存
试剂五应用液的配制: 临用前, 按贮备液: 试剂五溶剂=1: 9 的比例进行稀释, 充分溶解, 现用现配。			
试剂六	液体	500 μl×1 支	4℃ 保存
[注]: 试剂六很粘稠, 取样时要缓慢仔细。			
GSSG 标准品	6.13mg	粉剂×1 支	4℃ 保存
1mmol/L 的 GSSG 贮备液配制: 临用前加入 10ml 的双蒸水, 配成 1mmol/L 的 GSSG 贮备液, 分装后-20℃ 保存一个月有效。			
50 μmol/L 的 GSSG 标准品应用液配制: 将 1mmol/L 的 GSSG 贮备液用试剂四 20 倍(1:19)稀释制备成 50 μmol/L 的 GSSG 标准品应用液, 现用现配。			
GSH 标准品	3.07mg	粉剂×1 支	4℃ 保存
1mmol/L 的 GSH 贮备液配制: 临用前加入 10ml 的双蒸水, 配成 1mmol/L 的 GSH 贮备液, 分装后-20℃ 保存一个月有效。			

50 μ mol/L 的 GSH 标准品应用液配制：将 1mmol/L 的 GSH 贮备液用试剂四 20 倍(1:19) 稀释制备成 50 μ mol/L 的 GSH 标准品应用液，现用现配。

### 三、样本测试前处理：

详见试剂盒内说明书

### 四、操作过程：

#### 1、T-GSH 的测定步骤：

T-GSH 操作步骤表		
	标准管	测定管
50 μ mol/L GSH 标准品 (μl)	50	
样本 (μl)		50
试剂一 (μl)	400	400
试剂二 (μl)	50	50
混匀后，室温 (25℃) 静置 2 分钟		
试剂三 (μl)	200	200

加试剂三的同时开始计时，混匀后，立即于 1cm 光径 4mm 内径的玻璃比色皿中，412nm 处，30 秒时准时读取吸光度值 (A1)，室温 (25℃) 静置 10 分钟，10 分 30 秒时准时读取吸光度值 (A2)。

#### 2、GSSG 的测定步骤：

##### ①、前处理：

GSSG 操作步骤表		
试剂名称	标准管	测定管
50 μ mol/L GSSG 标准品 (μl)	100	
样本 (μl)		100
试剂五 (μl)	2	2
试剂六 (μl)	5	5
漩涡混匀 1 分钟，37℃反应 30 分钟，然后取样 50 μl 进行测定		

##### ②、GSSG 含量测定：

试剂名称	标准管	测定管
标准前处理液 (μl)	50	
样本前处理液 (μl)		50
试剂一 (μl)	400	400
试剂二 (μl)	50	50
混匀后，室温 (25℃) 静置 2 分钟		

试剂三 (μl)	200	200
----------	-----	-----

加试剂三的同时开始计时，混匀后，立即于 1cm 光径 4mm 内径的玻璃比色皿中，412nm 处，30 秒时准时读取吸光度值 (A1)，室温 (25℃) 静置 10 分钟，10 分 30 秒时准时读取吸光度值 (A2)。

三、计算公式：

$$T-GSH \text{ 含量} = \frac{T-GSH \text{ 测定 } \Delta A \text{ 值} (A_2 - A_1)}{T-GSH \text{ 标准 } \Delta A \text{ 值} (A_2 - A_1)} \times \text{标准品浓度} \times \text{样本测试前}$$

$$\begin{aligned} GSSG \text{ 含量} &= \frac{GSSG \text{ 测定 } \Delta A \text{ 值} (A_2 - A_1)}{GSSG \text{ 标准 } \Delta A \text{ 值} (A_2 - A_1)} \times \text{标准品浓度} \times \text{样本测试前} \\ &= \frac{GSSG \text{ 测定 } \Delta A \text{ 值} (A_2 - A_1)}{GSSG \text{ 标准 } \Delta A \text{ 值} (A_2 - A_1)} \times (50 \mu mol / L) \times \text{稀释倍数} \end{aligned}$$

$$\text{还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量} = T-GSH \text{ 含量} - 2 \times GSSG \text{ 含量}$$