

## 总谷胱甘肽-氧化型谷胱甘肽 (T-GSH/GSSG) 测试盒

微板法: 96T

### 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	48T	96T	保存
试剂一	底物一粉剂	粉剂×1 支	粉剂×2 支	4℃ 保存
	底物一缓冲液	5ml×1 瓶	5ml×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	25 μl×1 支	25 μl×2 支	-20℃ 保存
	底物二稀释液	500 μl×1 支	500 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×3 支	粉剂×5 支	-20℃ 保存
	稀释液	1ml×3 支	1ml×5 支	4℃ 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×3 瓶	粉剂×5 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	15 μl×1 支	30 μl×1 支	4℃ 保存
	试剂五溶剂	150 μl×1 瓶	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	250 $\mu$ l $\times$ 1 支	500 $\mu$ l $\times$ 1 支	4 $^{\circ}$ C 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 $\times$ 1 支	粉剂 $\times$ 1 支	4 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 保存一个月有效。  50 $\mu$ mol/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 $\mu$ mol/L 的 GSSG 标准品应用液, 现用现配。				
GSH 标准品	3.07mg	粉剂 $\times$ 1 支	粉剂 $\times$ 1 支	4 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 保存一个月有效。  50 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ mol/L GSH 标准品 ( $\mu$ l)	10	
样本 ( $\mu$ l)		10
试剂一 ( $\mu$ l)	100	100
试剂二 ( $\mu$ l)	10	10
混匀后, 室温 (25 $^{\circ}$ C) 静置 2 分钟		
试剂三 ( $\mu$ l)	50	

加试剂三的同时开始计时，轻轻摇动酶标板使试剂充分混匀，置酶标仪中，405nm 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 μmol/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 10 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）	10	
样本前处理液（μl）		10
试剂一（μl）	100	100
试剂二（μl）	10	10
混匀后，室温（25℃）静置 2 分钟		
试剂三（μl）	50	50

加试剂三的同时开始计时，轻轻摇动酶标板使试剂充分混匀，置酶标仪中，405nm 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)。

#### 四、计算公式：

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

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

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