

总谷胱甘肽-氧化型谷胱甘肽（T-GSH/GSSG）测试盒

微板法：48T

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 μl×1 支	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	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	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 μmol/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 μmol/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 μmol/L GSH 标准品 (μl)	10	
样本 (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）。

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：

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

$$(\mu mol / L) \text{ T-GSH 标准 } \Delta A \text{ 值} (A_2 - A_1) (50 \mu mol / L) \text{ 稀释倍数}$$

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

$$= \frac{GSSG \text{ 测定 } \Delta A \text{ 值} (A_2 - A_1)}{GSSG \text{ 标准 } \Delta A \text{ 值} (A_2 - A_1)} \times$$

$$(\mu mol / L) \text{ GSSG 标准 } \Delta A \text{ 值} (A_2 - A_1) (50 \mu mol / L) \text{ 稀释倍数}$$

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