还原型谷胱甘肽（GSH）含量检测试剂盒说明书

规格：48 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1.使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本上清进行预检测。

3.本试剂盒仅用于科研。

4.当测定管的 OD 值大于 1.5 时，需将样本稀释至 OD 值小于 1.5 后检测，稀释时确保样品液体混匀，计算时乘以相应稀释倍数。

5.因本产品试剂一内含蛋白沉淀剂，因此本实验样品上清液不可用于蛋白含量检测。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	50 mL×1	4℃避光	
试剂二	8 mL×1	4℃	
试剂三	3 mL×1	4℃避光	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、1.5 mL 离心管、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1、血清、血浆、培养液等液体样品：取适量样品加入等体积试剂一，充分混匀，然后 10000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清液为待测样本。若暂时不测可于-80℃保存 3 天。

2、组织样品

按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）进行冰浴匀浆，然后 10000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清液为待测样本。若暂时不测可于-80℃保存 3 天。

3、细胞/细菌样品

按照细胞/细菌数量（10^4个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例

（建议 500 万细胞/细菌加入 1 mL 试剂一，冰浴超声波破碎（功率 200W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次）；10000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清液为待测样本。若暂时不测可于-80℃保存 3 天。

五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 412 nm 处。

2. 在 96 孔板中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管	空白管
样本（μL）	20	-
超纯水（μL）	-	20
标准品（μL）	-	-
试剂二（μL）	140	140
试剂三（μL）	40	40
充分混匀，静置 2 min，于 412 nm 处测定吸光值 A。ΔA=A 测定-A 空白，空白管只需做 **2~3** 管。		

六、计算：

标准条件下测定回归方程为 y=0.0.0029x+0.0028，R^2=0.9999；x 为标准品浓度（μg/mL），y 为吸光值。

1、按照血清（浆）或者细胞/细菌培养液体积计算

还原型谷胱甘肽含量（**μg/mL**）=（ΔA-0.0028）÷0.0029×2=689.66×（ΔA-0.0028）

2、按照样本质量计算

还原型谷胱甘肽含量（**μg/g** 鲜重）=（ΔA-0.0028）÷0.0029×V 样÷（V 样÷V 样总×W）=344.83×（ΔA-0.0028）÷W

3、按照按细胞/细菌计算

还原型谷胱甘肽含量（**μg/10^{4}cell**）=（ΔA-0.0028）÷0.0029÷N=344.83×（ΔA-0.0028）÷N

V 样：加入反应体系中上清液体积，0.02 mL，V 样总：加入提取液体积，1 mL；W：样本质量，g；N：细菌或细胞/细菌总数；2：血清、血浆、培养液等稀释倍数。

八、产品简介

还原型谷胱甘肽是细胞内源合成的小分子抗氧化三肽，由谷氨酸、半胱氨酸、甘氨酸经胞内酶促反应组装生成，靠自身氧化分解完成周转清除，是动植物生理生化核心抗氧化防御指标，同时反映机体氧化胁迫强度、毒素解毒能力、细胞存活抗逆水平，广泛用于畜禽、实验动物、作物、园艺植物抗逆性检测。