

Oxidized Glutathione(GSSG) Content Assay Kit

氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量测定试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1067B	氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量测定试剂盒 微板法	96T

产品简介:

谷胱甘肽通常以还原型状态(GSH)存在,但是GSH在氧化应激的作用下会转化为氧化型状态(GSSG),而GSSG会被谷胱甘肽还原酶还原成GSH,因此GSH/GSSG的比值被认为是氧化应激研究的一个重要指标。

本试剂盒含有GSH抑制剂,加入抑制剂可以除去样品溶液中的GSH,并在谷胱甘肽还原酶作用下使氧化型谷胱甘肽(GSSG)转化为还原型谷胱甘肽(GSH),进而与DTNB与反应生成在412nm处有特征吸收峰的复合物;进而对GSSG进行定量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体×1 支	4°C保存	临用前取 60μL 的试剂一至一支新的离心管中,加 1mL 的乙醇混匀后测定(共配制 2 支即可)。
试剂二	粉末×2 支	-20°C保存	用前甩几下或 4°C离心使试剂落入试管底部,每支加 0.6mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20°C保存,禁止反复冻融,一星期内用完。
试剂三	液体 1mL×1 瓶	4°C保存	若凝固,可在 25°C水浴温育片刻至全部融化后使用。
试剂四	液体 15mL×1 瓶	4°C保存	
试剂五	液体 10μL×1 支	-20°C保存	用前甩几下或 4°C离心使试剂落入试管底部,再加 1.1 mL 蒸馏水溶解备用。
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

使用方法:

建议正式实验前,选取 2 个样本做预测定,了解实验样品情况,熟悉流程,避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织,加入 1mL 提取液,进行冰浴匀浆;
- 12000rpm, 4°C离心 15min,取上清,置冰上待测。

【注】:根据研究需求,可按组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:10 的比例进行提取。

2. 细菌/细胞样本:

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
 - (b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3min）；
 - (c) 12000rpm，室温离心 15min，取上清，置冰上待测。
- 【注】：若增加样本量，可按每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞数量加入 1mL 提取液的比例进行提取。
3. 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

二、样品测定：

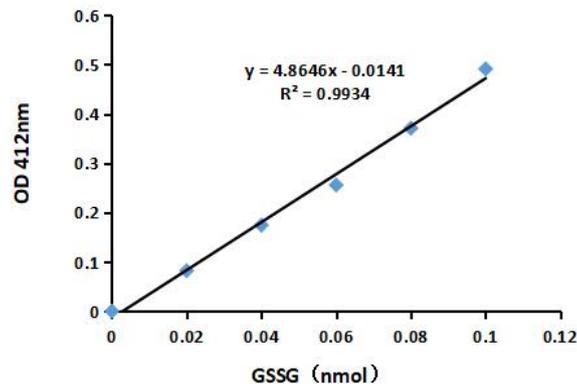
1. 酶标仪预热 30min，设定波长到 412nm，蒸馏水调零。
2. 所有试剂在使用前需在 25°C 水浴中保温 10min。若批量测定，则试剂二和三和四可按照 10:10:140 配成混合液，按照 160 μ L 加样量操作。
3. 在 1ml 玻璃比色皿(光径 1cm)中依次加入：

试剂名称 (μ L)	测定管
样本	20
试剂一	10
轻轻混匀，孵育 10 分钟	
试剂二	10
试剂三	10
试剂四	140
试剂五	10
混匀，室温（25°C）下，立即于 412nm 读取吸光值 A1，25min 后读取吸光值 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

- 【注】：1. 若 ΔA 在零附近徘徊，可增加样本加样量（如增至 40 μ L），则试剂四相应减少，保持反应总体积 200 μ L 不变。
2. 严格控制反应时间于 25min 读值。

三、结果计算

1. 标准曲线方程为 $y = 4.8646x - 0.0141$ ；x 为标准品质量（nmol），y 为 ΔA 。



2. 按样本鲜重计算：

$$\text{GSSG}(\text{nmol/g 鲜重}) = (\Delta A + 0.0141) \div 4.8646 \div (W \times V1 \div V) = 10.28 \times (\Delta A + 0.0141) \div W$$

3. 按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{GSSG}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A + 0.0141) \div 4.8646 \div (\text{细胞数量} \times V1 \div V) \\ &= 10.28 \times (\Delta A + 0.0141) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算：

$$\text{GSSG}(\text{nmol/mL}) = (\Delta A + 0.0141) \div 4.8646 \div V1 = 10.28 \times (\Delta A + 0.0141)$$

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



V---加入提取液体积, 1 mL

V1---加入样本体积, 20 μ L =0.02mL

W---样本质量, g

附: 标准曲线制作过程:

1. 制备标准品母液 (10 μ mol/mL): 标准品溶于 1.06mL 蒸馏水中, (母液需在两天内用且 -20 $^{\circ}$ C 保存)。
2. 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 1, 2, 3, 4, 5 nmol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据测定管的加样体系操作, 根据结果即可制作标准曲线。

注意事项:

- 1、粗提液不能用于测定可溶性蛋白含量。
- 2、一些还原剂如抗坏血酸, 巯基乙醇, 二硫苏糖醇 (DTT) 和半胱氨酸, 或巯基反应性化合物如马来酰亚胺化合物会干扰谷胱甘肽测定。因此在样品制备过程中应避免使用这些物质。
- 3、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 4、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20 $^{\circ}$ C 保存三个月。

