

氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量试剂盒

- 【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)。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掩蔽剂,加入掩蔽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。

【货 号】 TC1012

【规 格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	100mL×1瓶	4℃	临用前取45uL的试剂一至一支新的EP管中,加1.5mL的乙醇混匀后测定(共配制2支即可)。
试剂一	液体uL×1支	4℃	用前甩几下或4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℃保存,禁止反复冻融,一星期内用完。
试剂二	EP管×2支	-20℃	若凝固,可在25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。
试剂三	液体1mL×1支	4℃	若凝固,可在25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。
试剂四	液体15mL×1支	4℃	
试剂五	液体10uL×1支	-20℃	用前甩几下或4℃离心使试剂落入试管底部,再加1.1mL蒸馏水溶解备用。
标准品	粉体mg×1支	4℃	若重新做标曲,则用到该试剂。

【保存条件】 4℃保存,有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备：

①组织样本：称取约 0.1g组织，加入1mL 提取液，进行冰浴匀浆。4℃ x12000rpm离心15min，取上清液，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：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细菌或细胞加入1mL提取液；超声波破碎细菌或细胞(功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min)；4℃x12000rpm离心15min，取上清液，置冰上待测。

注：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL)为500~1000:1的比例提取

③液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测

①可见分光光度计预热30min，调节波长到412nm，蒸馏水调零。

②所有试剂在使用前需在25℃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580uL加样量操作。

③在96孔板中依次加入：

试剂名称(uL)	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℃)下，立即于412nm 读取吸光值A1，25min后读取吸光值 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。	

④标准曲线结果计算①由标准品测定获得，如需重制见随货说明书或咨询。

3、结果计算：

①标准曲线： $y=4.8646X-0.0141$ ，x 为标准品质量(nmol)，y为 ΔA 。

②按样本鲜重计算：

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

③按细胞数量计算：

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

④按照液体体积计算：

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

V--加入提取液体积，1mL； V1--反应中加入样本体积，80uL =0.08mL；
W--样品质量，g；

- 【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，2-ME，DTT 和半胱氨酸或巯基反应化合物会干扰谷胱甘肽测定。
 - 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。
-