

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

**产品货号: E-BC-K030-M**

**产品规格: 48T(31 samples)/96T(79 samples)**

**检测仪器: 酶标仪 (405-414 nm)**

## **Elabscience<sup>®</sup>还原型谷胱甘肽 (GSH) 比色法测试盒**

### **Reduced Glutathione (GSH) Colorimetric Assay Kit**

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: [biochemical@elabscience.cn](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。  
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

## 用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、培养液、动植物组织样本及培养细胞中 GSH 的含量。

## 检测原理

还原型谷胱甘肽 (GSH) 可与二硫代二硝基苯甲酸 (DTNB) 反应产生硫代硝基苯甲酸和谷胱甘肽二硫化物 (反应式见图 A), 硝基巯基苯甲酸是一种黄色化合物, 在 405 nm 处, 可进行比色定量测定还原型谷胱甘肽 (GSH) 的含量。



本试剂盒检测组织和细胞样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用 BCA 法 (货号: E-BC-K318-M)。

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	酸试剂 (Acid Reagent)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	磷酸盐 (Phosphate)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	DTNB 溶液 (DTNB Solution)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	GSH 标准品粉剂 (GSH Standard)	3.07 mg×1 支	3.07 mg×2 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	GSH 标准品溶剂贮备液 (GSH Standard Stock Diluent)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

## 所需自备物品

**仪器：**酶标仪（405-414 nm）、涡旋混匀仪、微量移液器（1000  $\mu$ L，200  $\mu$ L，100  $\mu$ L，10  $\mu$ L）

**耗材：**枪头（1000  $\mu$ L，200  $\mu$ L，10  $\mu$ L）、EP管（5 mL、2 mL）

**试剂：**双蒸水或去离子水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

## 试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② GSH标准品溶剂应用液的配制：

按试剂五：双蒸水为1:9的体积比混匀，现用现配。

③ 1 mmol/L GSH溶液的配制：

将1支试剂四加10 mL GSH标准品溶剂应用液，混匀，现用现配；未用完的部分，分装后-20 $^{\circ}$ C可保存一个月。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度( $\mu$ mol/L)	0	10	20	40	50	60	80	100
1 mmol/L GSH 溶液( $\mu$ L)	0	3	6	12	15	18	24	30
GSH 标准品溶剂应 用液( $\mu$ L)	300	297	294	288	285	282	276	270

## 样本准备

### ① 样本处理

**样本要求：样本中不能添加DTT、2-巯基乙醇等还原性物质，**

血清(浆)等液体样本：直接测定。

组织样本：常规匀浆处理(匀浆介质为PBS (0.01 M, pH 7.4) 或生理盐水 (0.9% NaCl) )。匀浆后，4℃，10000 ×g离心10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

细胞样本：取10<sup>6</sup>细胞加入300-500 μL PBS (0.01 M, pH 7.4) 或生理盐水 (0.9% NaCl) 进行匀浆。匀浆后，4℃，10000 ×g离心10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

### ② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：2-100 μmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	大鼠血清	不稀释
人血浆	不稀释	大鼠血浆	不稀释
10%小鼠脑匀浆	不稀释	小鼠血清	不稀释
10%小鼠肝匀浆	不稀释	10%胡萝卜匀浆	不稀释
Hela 细胞匀浆 (0.999 mgprot/mL)	不稀释	293T 细胞上清	不稀释

注：稀释液为生理盐水 (0.9% NaCl) 或 PBS (0.01M, pH 7.4) 。

## 实验关键点

- ① 上清液制备时，离心后的上清液必须澄清。
- ② 测 OD 值时，酶标板孔中不能有气泡。

## 操作步骤

- ① 上清液的制备：取 0.1 mL 待测样本，加 0.1 mL 试剂一，混匀，4500 ×g 离心 10 min，取上清液待测（若上清液中含有部分沉淀物，将上清液转入新的 EP 管中，再次离心）。
- ② 向标准、测定、测定空白孔加 25 μL 试剂三。  
测定空白孔：加 100 μL 试剂一；  
标准孔：加 100 μL 不同浓度的 GSH 标准溶液；  
测定孔：加 100 μL 上清液；
- ③ 向步骤②中的各孔加入 100 μL 试剂二。
- ④ 酶标仪振板 1 min，静置 5 min，酶标仪 405 nm 测 OD 值。

注：试剂加入酶标孔时，应触酶标板底加入；加样要慢，避免产生气泡。（气泡影响测定结果）。

## 操作表

	标准孔	测定孔	测定空白孔
试剂三 (μL)	25	25	25
试剂一 (μL)			100
不同浓度的 GSH 标准溶液(μL)	100		
上清液 (μL)		100	
试剂二 (μL)	100	100	100
酶标仪振板 1 min，静置 5 min，酶标仪 405 nm 测 OD 值。			

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

## 结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清（浆）、细胞上清 GSH 计算公式：

$$\text{GSH 含量} \begin{matrix} (\mu\text{mol/L}) \end{matrix} = (\Delta A_{405} - b) \div a \times 2 \times f$$

细胞、组织 GSH 含量计算公式：

$$\text{GSH 含量} \begin{matrix} (\mu\text{mol/gprot}) \end{matrix} = (\Delta A_{405} - b) \div a \times 2 \times f \div C_{pr}$$

### 注解：

y: 标准品 OD 值-标准空白孔 OD 值

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

$\Delta A_{405}$ : 测定孔 OD 值-测定空白孔 OD 值

2: 上清液制备时稀释倍数（2 倍）

f: 待测样本加入检测体系之前的稀释倍数

$C_{pr}$ : 待测样本的蛋白浓度（gprot/L）

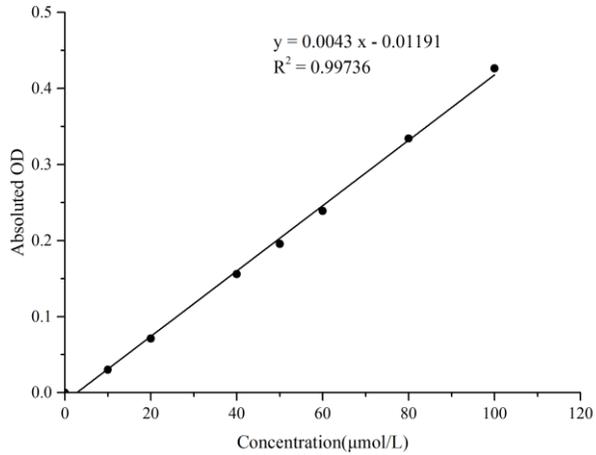
## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

检测范围	2-100 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	3.2 %
灵敏度	2 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	1.9 %
平均回收率	96 %		

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)

绘制标曲(数据仅供参考):



## 附录2 实例分析

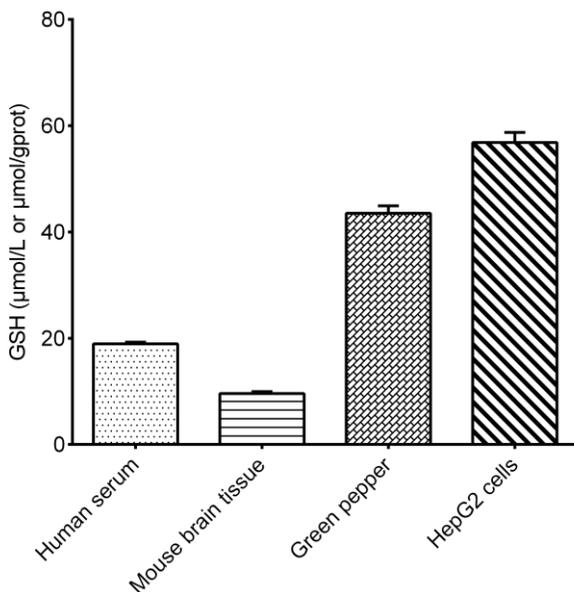
例如检测人血清(数据仅供参考):

取0.1 mL血清(浆)上清,加入0.1 mL试剂一混匀,4500 ×g,离心10 min,取上清0.1 mL,按说明书上的操作表检测,结果如下:

标准曲线:  $y = 0.00383x - 0.00251$ , 测定空白孔OD值为0.047, 测定孔OD值为0.080, 计算结果为:

$$\text{GSH 含量} (\mu\text{mol/L}) = (0.080 - 0.047 + 0.00251) \div 0.00383 \times 2 = 18.54 \mu\text{mol/L}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量为100 μL)、小鼠脑组织(10%组织匀浆的蛋白含量5.37 g/L,加样量为100 μL)、青椒(10%组织匀浆的蛋白含量1.10 g/L,加样量为100 μL)及HepG2细胞(蛋白含量3.19 g/L,加样量为100 μL)中GSH含量(如下图):



### 附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	微量移液器使用不熟练	小心加样,避免液体溅到其它板孔中
	板孔中存在气泡	用枪头轻轻戳破气泡
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测

#### 声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

## 附录4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatform induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675

11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1  $\alpha$  -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose

- and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113
22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- $\kappa$ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
  23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
  24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
  25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
  26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
  27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
  28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- $\beta$  Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
  29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
  30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508