

(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-S**

**产品规格：50 assays(48 samples)/100 assays(96 samples)**

**检测仪器：紫外-可见光分光光度计（420 nm）**

## **Elabscience®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、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 (反应式见下图), 硝基巯基苯甲酸是一种黄色化合物, 在 420 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, 推荐使用考马斯亮蓝法 (货号: E-BC-K168-S)

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50assays)	规格 2 (Size 2) (100assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	酸试剂 (Acid Reagent)	45 mL×1 瓶	45 mL×2 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	磷酸盐 (Phosphate)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	DTNB 溶液 (DTNB Solution)	15 mL×1 瓶	30 mL×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	盐试剂 (Salt Reagent)	粉剂×2 支	粉剂×4 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	GSH 标准品 (GSH Standard)	3.07 mg×1 支	3.07 mg×2 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	GSH 标准品溶剂贮备液 (GSH Standard Stock Diluent)	6 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月

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：**紫外-可见分光光度计（420 nm）、涡旋混匀仪、磁力搅拌器、微量移液器（1000  $\mu\text{L}$ ，200  $\mu\text{L}$ ，100  $\mu\text{L}$ ，10  $\mu\text{L}$ ）、烧杯（250 mL）

**耗材：**枪头（1000  $\mu\text{L}$ ，200  $\mu\text{L}$ ，10  $\mu\text{L}$ ）、EP管（5 mL、2mL）、吸水纸、擦镜纸、磁力搅拌子

**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 试剂二应用液的配制：

取试剂二1瓶用75 mL双蒸水搅拌溶解，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存6个月，该试剂为饱和溶液，如有结晶，取上清进行实验。

③ 试剂四应用液的配制：

取1支试剂四加10 mL双蒸水溶解，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存1个月。

④ 试剂六工作液的配制：

按试剂六：双蒸水为1:9的体积比混匀，现用现配。

⑤ 1 mmol/L GSH标准溶液的配制：

取1支试剂五加10 mL 试剂六工作液，混匀，现用现配，分装后-20 $^{\circ}\text{C}$ 可保存一个月。

⑥ 20  $\mu\text{mol/L}$  GSH标准溶液的配制：

按1 mmol/L GSH标准溶液：试剂六工作液为1:49的体积比混匀，现用现配。

## 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：0.26-122.8 mgGSH/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	人血浆	不稀释
小鼠血清	不稀释	大鼠血浆	不稀释
10%小鼠脑匀浆	不稀释	10%胡萝卜匀浆	不稀释
10%大鼠肝匀浆	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 (0.01 M, pH 7.4) 。

## 实验关键点

上清液制备时，离心后的上清液必须澄清。

## 操作步骤

- ① 上清液的制备：取 0.7 mL 待测样本，加 0.7 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 空白管：取 1 mL 试剂一，加入 5 mL EP 管中；  
标准管：取 1 mL 20 μmol/L GSH 标准品，加入 5 mL EP 管中；  
测定管：取 1 mL 上清液，加入 5 mL EP 管中；
- ③ 向步骤②中的各管加入 1.25 mL 试剂二应用液、0.25 mL 试剂三、0.05 mL 试剂四应用液，涡旋混匀。
- ④ 室温静置 15 min，波长 420 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。

## 操作表

	空白管	标准管	测定管
试剂一 (mL)	1		
20 μmol/L GSH 标准品 (mL)	--	1	--
上清液 (mL)	--	--	1
试剂二应用液 (mL)	1.25	1.25	1.25
试剂三 (mL)	0.25	0.25	0.25
试剂四应用液 (mL)	0.05	0.05	0.05
混匀，室温静置 15 min，420 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。			

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

血清(浆) GSH 含量计算公式:

$$\frac{\text{GSH 含量}}{(\text{mg GSH/L})} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times C \times M \times 2 \times f$$

细胞、组织 GSH 含量计算公式:

$$\frac{\text{GSH 含量}}{(\text{mg GSH/gprot})} = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times C \times M \times 2 \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解:

$\Delta A_1$ : 样本 OD 值-空白 OD 值

$\Delta A_2$ : 标准 OD 值-空白 OD 值

c: 标准品浓度 ( $20 \times 10^{-3}$  mmol/L), 标准品浓度  $20 \mu\text{mol/L} = 20 \times 10^{-3}$  mmol/L

M: GSH 分子量 (307)

2: 上清液制备时稀释倍数 (2 倍)

f: 待测样本加入检测体系前的稀释倍数

$C_{\text{pr}}$ : 待测样本的蛋白浓度 (gprot/L)

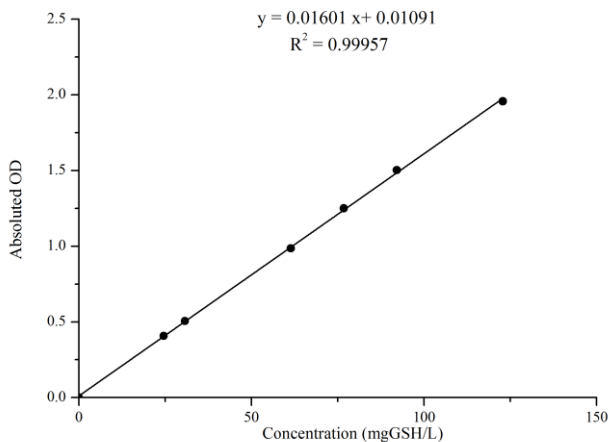
## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

检测范围	0.26-122.8 mgGSH/L	平均批间差	2.4 %
灵敏度	0.26 mgGSH/L	平均批内差	1.8 %
平均回收率	102 %		

### 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

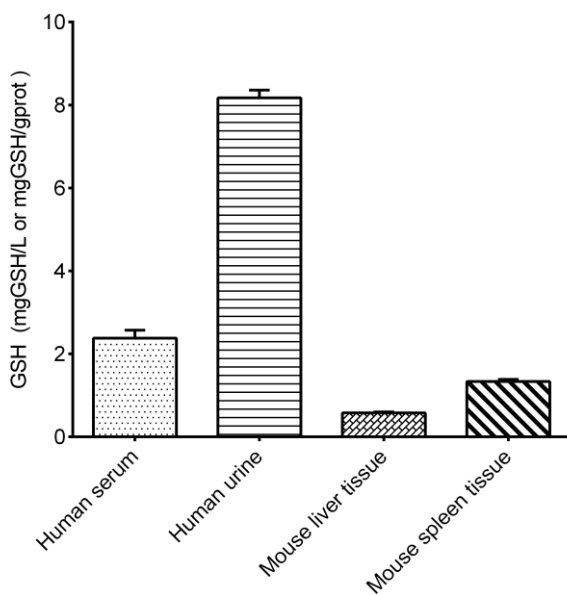
例如检测小鼠脾组织(数据仅供参考):

取0.7 mL 10%小鼠脾组织匀浆上清液,加0.7 mL试剂一混匀,4500 × g,离心10 min,取上清1 mL,按说明书操作,结果如下:

空白管平均OD值为0.017,标准管平均OD值为0.117,测定管平均OD值为0.087,标准管浓度为20 μmol/L,同时测得10%蛋白浓度为6.485 gprot/L,计算结果为:

$$\text{GSH 含量 (mgGSH/gprot)} = \frac{0.087-0.017}{0.117-0.017} \times 0.02 \times 307 \times 2 \div 6.485 = 1.34 \text{ (mgGSH/gprot)}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量为0.7 mL)、人尿液(加样量为0.7 mL)、小鼠肝脏(10%组织匀浆的蛋白含量12.68 g/L,加样量为0.7 mL)及小鼠脾组织(10%组织匀浆的蛋白含量6.49 g/L,加样量为0.7 mL)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
	上清液制备时,离心后的上清液仍浑浊	取出上清液于新的EP管中,再次离心
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同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 nanoplatfrom 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