

**氧化型谷胱甘肽（GSSG）含量测试盒说明书**  
**可见分光光度法**  
**AM0121**

**保存条件**

按照产品内容保存要求保存。

**产品信息**

产品名称	产品货号	规格
氧化型谷胱甘肽（GSSG）含量测试盒 可见分光光度法	AM0121	50 管/48 样

**产品简介**
**测定意义：**

GSH/GSSG 是细胞内最重要的氧化还原对之一。因此，测定细胞内 GSH 和 GSSG 含量以及 GSH/GSSG 比值，能够很好地反映细胞所处的氧化还原状态，也是谷胱甘肽氧化还原循环的主要指标之一。

**测定原理：**

利用 2-VP 法测 GSSG 含量。

**产品内容**

组成	含量	保存
试剂一	液体 x1 瓶	4°C
试剂二	液体 x1 瓶	4°C
试剂三	液体 x1 瓶	4°C
试剂四	液体 x1 瓶	4°C
试剂五	粉剂 x1 瓶	4°C 临用前加入 5 mL 蒸馏水溶解，4°C保存
试剂六	液体 x1 瓶	4°C 临用前加入 0.5 mL 蒸馏水稀释，4°C保存
标准品	液体 x1 瓶 3μmol/mL GSSG	4°C

**使用方法**

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

需自备的仪器和用品：可见分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调节移液器、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

#### 粗酶液提取：

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一）进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清液（如上清不清澈，再离心 3min）100μL，加 900μL 的蒸馏水混匀待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量（10<sup>4</sup> 个）：试剂一体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；8000g 4℃离心 10min，取上清液（如上清不清澈，再离心 3min）100μL，加 900μL 的蒸馏水混匀待测。
3. 血清等液体：直接测定。

#### 测定操作：

1. 分光光度计预热 30 min，调节波长到 412 nm，蒸馏水调零。
2. 试剂三置于 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）水浴中保温 30min。
3. 标准管：取 1 mL EP 管，加入 100 μL 标准液，2 μL 试剂二，盖紧后混匀，置于 37℃水浴 30min；开盖后依次加入 700μL 试剂三，100 μL 试剂四，100 μL 试剂五，10 μL 试剂六，迅速混匀后，测定 30 s 和 150 s 光吸收 A1 和 A2。
4. 测定管：取 1 mL EP 管，加入 100 μL 上清液，2 μL 试剂二，盖紧后混匀，置于 37℃水浴 30min；开盖后依次加入 700μL 试剂三，100 μL 试剂四，100 μL 试剂五，10 μL 试剂六，迅速混匀后，测定 30 s 和 150 s 光吸收 A3 和 A4。

**注意：**标准管只需要测定一次。

#### GSSG 含量计算公式：

(1). 按蛋白浓度计算

$$\text{GSSG } (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = C_{\text{标准液}} \times (A_4 - A_3) \div (A_2 - A_1) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}})$$

$$= 30.36 \times (A_4 - A_3) \div (A_2 - A_1) \div C_{\text{pr}}$$

(2). 按样本质量计算

$$\text{GSSG } (\mu\text{mol}/\text{g}) = C_{\text{标准液}} \times (A_4 - A_3) \div (A_2 - A_1) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W)$$

$$= 30.36 \times (A_4 - A_3) \div (A_2 - A_1) \div W$$

(3). 按细胞数量计算

---

$GSSG (\mu\text{mol}/10^4\text{cell}) = C \text{ 标准液} \times (A4 - A3) \div (A2 - A1) \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times \text{细胞数量}) = 30.36 \times (A4 - A3) \div (A2 - A1) \div \text{细胞数量}$

(4). 按照液体体积计算

$GSSG (\mu\text{mol}/\text{mL}) = C \text{ 标准液} \times (A4 - A3) \div (A2 - A1) \times V \text{ 反总} \div V \text{ 样}$   
 $= 30.36 \times (A4 - A3) \div (A2 - A1)$

C 标准液:  $3\mu\text{mol}/\text{mL}$  GSSG; V 反总: 反应总体积,  $1.012\text{mL}$ ; V 样: 反应中加入样本体积,  $0.1\text{mL}$ ; V 样总: 加入提取液体积,  $1\text{mL}$ ; W: 样品质量, g,  
Cpr: 样本蛋白浓度 ( $\text{mg}/\text{mL}$ )

#### 注意事项

1. 提取过程中去掉蛋白质, 所以提取液不能用于测定蛋白含量。
2. 临用前配制的试剂配好后  $4^\circ\text{C}$ 保存, 3 天内使用完毕。
3. 最低检出限为  $1\text{mmol}/\text{L}$ 。