

还原型谷胱甘肽(GSH)检测试剂盒

(用于血清、血浆、细胞培养上清液和其它生物体内)

原理

谷胱甘肽的主要生理作用是做为体内一种重要的抗氧化剂，它能够清除掉体内的自由基，清洁和净化体内环境污染，从而增进了的身心健康。由于还原型谷胱甘肽本身易受某些物质氧化，所以它在体内能够保护许多蛋白质和酶等分子中的巯基不被如自由基等有害物质氧化，从而让蛋白质和酶等分子发挥其生理功能。

本实验采用比色法在酶标板上反应，标准品和样品中的 GSH 与底物工作液显色，在 490nm 处测 OD 值，GSH 浓度与 OD 值成正比，可通过绘制标准曲线求出标本中 GSH 浓度。

试剂盒组成 (2-8℃保存)

酶标板 (Coated Wells)	96孔	标准品 (Standards): 20umol/ml	0.5ml
底物工作液 (INT Solution)	12ml	酶标抗体工作液 (Enzyme Conjugate)	1.2ml

准备试剂与收集血样

1. 收集标本：血清、血浆 (EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝)、细胞培养上清液、组织匀浆等尽早检测，2-8℃保存 48 小时；更长时间须冷冻 (-20℃或-70℃) 保存，避免反复冻融。
2. 标准品液配制：设标准管 8 管，第一管加蒸馏水 900ul，第二至第八管加入蒸馏水 500ul。在第一管中加入 20umol/ml 的标准品溶液 100ul 混匀后用加样器吸出 500ul，移至第二管。如此反复作对倍稀释，从第七管中吸出 500ul 弃去。第八管为空白对照。

检测程序

1. 加样：每孔各加入标准品或待测样品 5ul。
2. 每孔加入底物工作液 100ul。37℃孵育 5 分钟读取 OD 值 A1。
3. 每孔加酶标抗体工作液 10ul。振荡混匀后将反应板置 37℃30 分钟。
4. 30 分钟内用酶标仪在 490nm 处测吸光值 A2。

结果计算与判断

1. 所有 OD 值都应用 A2 减去 A1 后再行计算。
2. 以标准品 2000、1000、500、250、125、62.5、31.2、0 nmol/ml 为横坐标，OD 值为纵坐标，在坐标纸上作图，画出标准曲线。
3. 根据样品 OD 值在该曲线图上查出相应 GSH 含量。

试剂盒性能

1. 灵敏度：最小的 GSH 检测浓度小于 15nmol/ml。
2. 特异性：可同时检测重组或天然的 GSH。不与其它细胞因子有交叉反应。
3. 重复性：板内、板间变异系数均小于 10%。

注意事项

1. 以上标准孔及待测样品均建议做复孔，每次测定应同时做标准曲线。
2. 板条开封后剩余板条要再封好，保持板条干燥。
3. 本试剂盒宜置 4℃ 冰箱保存。
4. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
5. 样本如果浑浊需要离心或稀释后检测。