

## 还原型谷胱甘肽（GSH）测定试剂盒

微板法 96T

### 一、测定原理：

二硫代二硝基苯甲酸与巯基化合物反应时能产生一种黄色化合物，可进行比色定量测定。

### 二、试剂组成与配制：

**试剂一：**甲粉×1 瓶，乙液 50ml×1 瓶，4℃保存 6 个月。甲粉：加 90~100℃的热双蒸水 170ml，充分完全溶解；

试剂一应用液的配制：将已配好的甲液与乙液充分混合。此为过饱和溶液，室温静置冷却后，如有结晶，则取上清进行实验，室温保存 6 个月。

**试剂二：**粉剂×1 瓶，用时加双蒸水至 200ml 溶解，用我所赠送的塑料瓶室温保存 6 个月。

**试剂三：**粉剂×1 支，用时加双蒸水至 50ml 溶解，避光 4℃保存 6 个月。

**试剂四：**粉剂×4 支，用时每支加双蒸水 10ml 溶解，避光冷藏可保存 5 天。

**试剂五：**GSH 标准品粉剂 3.07mg×3 支，4℃保存 6 个月。

**试剂六：**GSH 标准品溶剂贮备液 10ml×1 瓶，4℃保存 6 个月。

GSH 标准品溶剂应用液的配制：按 GSH 标准品溶剂贮备液:双蒸水=1:9,加入 9 倍体积的双蒸水进行稀释，现用现配。

1mmol/L GSH 标准品溶液的配制：GSH 的分子量为 307，每次测定前将 3.07mg 的 GSH 标准品加入到 10ml 的 GSH 标准品溶剂应用液中，混匀，现用现配。

20 μ mol/L GSH 标准品溶液的配制：取 1mmol/LGSH 标准品溶液 0.2ml 加入 GSH 标准品溶剂应用液 9.8ml，现用现配。

### 三、操作步骤

1、上清液的制备：取待测样本 0.5ml,加试剂一应用液 2ml 混匀，3500~4000 转/分离心 10 分钟，取上清液 1ml 进行显色反应。

### 2、显色反应：

	空白管	标准管	测定管
试剂一应用液 (ml)	1.0		
20 μ mol/LGSH 标准品 (ml)		1.0	
上清液 (ml)			1.0
试剂二 (ml)	1.25	1.25	1.25
试剂三 (ml)	0.25	0.25	0.25
试剂四 (ml)	0.05	0.05	0.05

混匀，静置 5 分钟，420nm 处，1cm 光径，双蒸水调零，测定各管吸光度值。

#### 四、注意事项：

- 1、血液中的 GSH 几乎全部存在于红细胞内，可以用每升全血中 GSH 的克数来表示，也可用每克 Hb 中 GSH 的含量来表示。
- 2、计算时应用消光系数，故比色计要校正波长。用标准管计算较方便、准确。
- 3、吸取上清时，最好用带刻度的 5ml 滴管，或者用移液器，避开表面的一层薄膜，插到上清液中吸取 2ml 做显色反应。
- 4、最好每批试验做 2 个标准管、空白管，以减少操作误差。

#### 五、测定意义：

谷胱甘肽（GSH）是一种低分子清除剂，它可清除 O<sub>2</sub>-、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、LOOH。谷胱甘肽是谷氨酸、甘氨酸和半胱氨酸组成的一种三肽，是组织中主要的非蛋白质的巯基化合物，并且是 GSH—PX 和 GST 两种酶类的底物，为这二种酶分解氢过氧化物所必需，它并且能稳定含巯基的酶和防止血红蛋白及其它辅因子受氧化损伤，最近还证明 GSH 也参与使维生素 E 恢复到还原态的作用，缺乏或耗竭 GSH 会促使许多化学物质或环境因素产生中毒作用或加重其中毒作用，这可能与增加氧化损伤有关，因而 GSH 的量的多少是衡量机体抗氧化能力大小的重要因素。

