

谷胱甘肽S-转移酶（GST）活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

注意：正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1119

产品规格：50管/48样

产品说明：

谷胱甘肽S-转移酶（glutathione S-transferase, GST）是一种具有多种生理功能的蛋白质家族，主要存在于细胞质内。GST是体内解毒酶系统的重要组成部分，主要催化各种化学物质及其代谢产物与GSH的巯基共价结合，使亲电化合物变为亲水物质，易于从胆汁或尿液中排泄，达到将体内各种潜在或具备毒性的物质降解并排出体外的目的。因此，GST在保护细胞免受亲电子化合物的损伤中发挥着重要的生物学功能。此外，因为GST具有GSH-Px活性，亦称为non-Se GSH-Px，具有修复氧化破坏的大分子如DNA、蛋白质等的功能。注意，GST催化的反应减少GSH含量，但是不增加GSSG含量。

GST催化GSH与CDNB结合，其结合产物的光吸收峰波长为340nm；通过测定340nm波长处吸光度上升速率，即可计算出GST活性。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

产品名称	产品规格	保存条件
试剂一	液体50mL×1瓶	4℃
试剂二	液体45mL×1瓶	4℃
试剂三	粉剂×1瓶	4℃

溶液的配制：

试剂三：临用前加5mL蒸馏水溶解。

需自备的仪器和用品：

紫外-可见分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调节移液器、研钵/匀浆器、1mL石英比色皿和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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，取上清置冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量（ 10^4 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）；然后8000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。
3. 血清等液体：直接测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min，调节波长到340nm，蒸馏水调零。
2. 试剂二放在25℃（一般物种）或者37℃（哺乳动物）保温。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- 空白管：取1mL石英比色皿，加入100 μ L试剂一，900 μ L试剂二和100 μ L试剂三，迅速混匀后于340nm测定10s吸光度记A1，25 $^{\circ}$ C（一般物种）或者37 $^{\circ}$ C（哺乳动物）水浴5min后，快速取出测定吸光度记A2。
- 测定管：取1mL石英比色皿，加入100 μ L上清液，900 μ L试剂二和100 μ L试剂三，迅速混匀后于340nm测定10s吸光度记A3，25 $^{\circ}$ C（一般物种）或者37 $^{\circ}$ C（哺乳动物）水浴5min后，快速取出测定吸光度记A4。

三、GST计算公式：

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义：在25 $^{\circ}$ C或者37 $^{\circ}$ C中，每毫克蛋白每分钟催化1 μ mol CDNB与GSH结合为一个酶活性单位。

$$\text{GST (U/mg prot)} = [(A4-A3)-(A2-A1)] \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ = 0.23 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算

活性单位定义：在25 $^{\circ}$ C或者37 $^{\circ}$ C中，每克样本每分钟催化1 μ mol CDNB与GSH结合为一个酶活性单位。

$$\text{GST (U/g 质量)} = [(A4-A3)-(A2-A1)] \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ = 0.23 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div W$$

(3) 按细胞数量计算

活性单位定义：在25 $^{\circ}$ C或者37 $^{\circ}$ C中，每10⁴个细胞每分钟催化1 μ mol CDNB与GSH结合为一个酶活单位。

$$\text{GST (U/10}^4\text{cell)} = [(A4-A3)-(A2-A1)] \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 0.23 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div \text{细胞数量}$$

(4) 按液体体积计算

活性单位定义：在25 $^{\circ}$ C或者37 $^{\circ}$ C中，每毫升液体每分钟催化1 μ mol CDNB与GSH结合为一个酶活单位。

$$\text{GST (U/mL)} = [(A4-A3)-(A2-A1)] \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \\ = 0.23 \times [(A4-A3)-(A2-A1)]$$

ϵ ：产物摩尔消光系数，9.6 $\times 10^3$ L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；10⁶：单位换算系数，1mol=1 $\times 10^6$ μ mol；V反总：反应体系总体积，1100 μ L=0.0011 L；Cpr：上清液蛋白质浓度（mg/mL），需要另外测定；V样：加入反应体系中上清液体积，100 μ L=0.1mL；T：反应时间，5min；W：样本质量，g；V样总：试剂一体积，1mL；细胞数量：以10⁴为单位，万。

注意事项：

- 样本处理等过程均需要在冰上进行，且须在当日测定酶活力。
- 细胞中GST活性测定时，细胞数目须在300万-500万之间，细胞中GST的提取时可加试剂一后研磨或超声波处理，不能用细胞裂解液处理细胞。
- 若样本测定吸光度大于1，建议对样本用蒸馏水稀释，计算时结果乘以稀释倍数。
- 测定反映的温度对测定结果有影响，请控制在25 $^{\circ}$ C或者37 $^{\circ}$ C（哺乳动物）。

实验实例：

- 取0.1g月季加入1mL试剂一进行冰浴匀浆，8000g，4 $^{\circ}$ C离心10min，取上清，稀释50倍置冰上待测，按照测定步骤操作，测得计算 ΔA 测定管=A4-A3=0.647-0.587=0.06， ΔA 空白管=A2-A1=0.591-0.539=0.052，按样本质量计算得：GST (U/g质量) = 0.23 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div W \times 50（稀释倍数）=0.92U/g质量。
- 取0.1g肝加入1mL试剂一进行冰浴匀浆，8000g，4 $^{\circ}$ C离心10min，取上清，稀释500倍置冰上待测，按照测定步骤操作，测得计算 ΔA 测定管=A4-A3=0.824-0.543=0.281， ΔA 空白管=A2-A1=0.591-0.539=0.052，按样本质量计算得：GST (U/g质量) = 0.23 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div W \times 500（稀释倍数）=263.35U/g质量。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com