谷胱甘肽S-转移酶（GST）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1120

产品规格：100管/96样

产品简介：

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：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体22mL×1瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂三：临用前加入2mL蒸馏水溶解。

试验中所需的仪器和试剂:

低温离心机、水浴锅、可调节移液器、紫外-可见分光光度计/酶标仪、研钵/匀浆器、微量石英比色皿/96孔UV板和蒸馏水。

操作步骤（仅供参考）：

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/酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 340nm，用蒸馏水调零。
2. 试剂二放在 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）保温。
3. 空白管：取微量石英比色皿，加入 20μL 试剂一，180μL 试剂二和 20μL 试剂三，迅速混匀后于 340nm 测定 10s 吸光度记 A1，在 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）水浴 5min 后，快速取出测定吸光度记 A2。
4. 测定管：取微量石英比色皿，加入 20μL 上清液，180μL 试剂二和 20μL 试剂三，迅速混匀后于 340nm 测定 10s 吸光度记 A3，25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）水浴 5min 后，快速取出测定吸光度记 A4。

三、GST 活性计算

a. **使用微量石英比色皿测定的计算公式如下**

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

1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每毫克蛋白每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活性单位。

GST（U/mg prot）=[(A4-A3)-(A2-A1)]÷(ε×d)×10^6×V 反总÷(Cpr×V 样)÷T=0.23×[(A4-A3)-(A2-A1)]÷Cpr

2. 按样本质量计算

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每克样本每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活性单位。

GST（U/g 质量）=[(A4-A3)-(A2-A1)]÷(ε×d)×10^6×V 反总÷(V 样÷V 样总×W)÷T=0.23×[(A4-A3)-(A2-A1)] ÷W

3. 按细胞数量计算

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每 10^4 个细胞每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活单位。

GST（U/10^4cell）=[(A4-A3)-(A2-A1)]÷(ε×d)×10^6×V 反总÷(500×V 样÷V 样总)÷T =0.23× [(A4-A3)-(A2-A1)] ÷50

4. 按液体体积计算

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每毫升液体每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活单位。

GST（U/mL）= [(A4-A3)-(A2-A1)]÷(ε×d)×10^6×V 反总÷V 样÷T =0.23×[(A4-A3)-(A2-A1)]

ε：产物摩尔消光系数，9.6×10^3L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；10^6：单位换算系数，1mol=1×10^6μmol；V 反总：反应体系总体积，220μL=2.2×10^{-4}L；Cpr：上清液蛋白质浓度（mg/mL），需要另外测定；W：样本质量，g；V 样：加入反应体系中上清液体积，20μL=0.02mL；V 样总：试剂一体积，1mL；T：反应时间，5min；500：细胞数量，500 万。

b. 使用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每毫克蛋白每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活性单位。

GST（U/mg prot）=[(A4-A3)-(A2-A1)]÷(ε×d)×10^6×V 反总÷(Cpr×V 样)÷T=0.38×[(A4-A3)-(A2-A1)] ÷Cpr

2. 按样本质量计算

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每克样本每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活性单位。

GST（U/g 质量）=[(A4-A3)-(A2-A1)]÷(ε×d)×10^6×V 反总÷(V 样÷V 样总×W)÷T =0.38×[(A4-A3)-(A2-A1)] ÷W

3. 按细胞数量计算

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每 10^4 个细胞每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活单位。

GST（U/10^4cell）=[(A4-A3)-(A2-A1)]÷(ε×d)×10^6×V 反总÷(500×V 样÷V 样总)÷T =0.38×[(A4-A3)-(A2-A1)] ÷500

4. 按液体体积计算

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每毫升液体每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活单位。

GST（U/mL）=[(A4-A3)-(A2-A1)]÷(ε×d)×10^6×V 反总÷V 样÷T=0.38×[(A4-A3)-(A2-A1)]

ε：产物摩尔消光系数，9.6×10^3L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.6cm；10^6：单位换算系数，1mol=1×10^6μmol；V 反总：反应体系总体积，220μL=2.2×10^{-4}L；Cpr：上清液蛋白质浓度（mg/mL），需要另外测定；W：样本质量， g；V 样：加入反应体系中上清液体积，20μL=0.02mL；V 样总：加入试剂一体积，1mL；T：反应时间，5min；500：细胞数量，500 万。

注意事项：

1. 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；
2. 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；
3. 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；
4. 测定反映的温度对测定结果有影响，请控制在 25℃或者 37℃（哺乳动物）。