



谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 活性检测试剂盒

**Glutathione S-Transferase (GST) Activity Assay Kit**



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 活性检测试剂盒

## Glutathione S-Transferase (GST) Activity Assay Kit

## 一、产品描述

谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 是一种由多个基因编码、具有多种细胞功能的蛋白, 广泛存在于动物、植物、微生物等多种生物组织中, 具有参与初生代谢、次生代谢、解毒和保护植物免受氧化损伤及异源物质隔离等作用, 并可作为配体蛋白在植物激素代谢方面发挥着重要作用。

谷胱甘肽 S-转移酶催化还原型谷胱甘肽 (GSH) 与 CDNB (1-Chloro-2,4-Dinitrobenzene, cDNB) 结合生成 GS-DNB, 产物在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征谷胱甘肽 S-转移酶的活性。

## 二、产品内容

| 名称  | 试剂规格          | 储存条件     | 使用说明及注意事项          |
|-----|---------------|----------|--------------------|
| 试剂一 | 液体 120 mL×1 瓶 | 4°C 保存   | -                  |
| 试剂二 | 液体 25 mL×1 瓶  | 4°C 避光保存 | -                  |
| 试剂三 | 粉剂×1 瓶        | 4°C 避光保存 | 使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 |

## 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

## 1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

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 0.1 g 组织, 加入 1 mL 试剂一) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 ( $10^4$  个): 试剂一体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 300 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 总时间 3 min), 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接测定或适当稀释后再进行检测。

## 2.测定步骤

- ①紫外分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将试剂二 37°C（哺乳动物）或 25°C（其他物种）中保温放置。
- ③在微量石英比色皿/96 孔 UV 板中依次加入下列试剂：

| 试剂  | 测定组<br>( $\mu\text{L}$ ) | 空白组<br>( $\mu\text{L}$ ) |
|-----|--------------------------|--------------------------|
| 粗酶液 | 20                       | -                        |
| 试剂一 | -                        | 20                       |
| 试剂二 | 180                      | 180                      |
| 试剂三 | 20                       | 20                       |

**吸光值测定：**①迅速混匀并开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37°C（哺乳动物）或 25°C（一般物种）准确反应 300 s，测定 310 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算  $\Delta A$  测定 = A2 测定 - A1 测定， $\Delta A$  空白 = A2 空白 - A1 空白， $\Delta A = \Delta A$  测定 -  $\Delta A$  空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

## 3.谷胱甘肽 S-转移酶（GST）活性计算

### 3.1 使用微量石英比色皿测定的计算公式

#### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：25°C 或 37°C 条件下，每 mg 组织蛋白每分钟催化 1  $\mu\text{mol}$  CDNB 与 GSH 结合定义为一个酶活力单位。

$$\text{GST (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.23 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

#### ②按组织样本质量计算

单位定义：25°C 或 37°C 条件下，每 g 组织每分钟催化 1  $\mu\text{mol}$  CDNB 与 GSH 结合定义为一个酶活力单位。

$$\text{GST (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.23 \times \Delta A}{W}$$

#### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：25°C 或 37°C 条件下，每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟催化 1  $\mu\text{mol}$  CDNB 与 GSH 结合定义为一个酶活力单位。

$$\text{GST (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.23 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④按液体样本体积计算

单位定义：25℃或 37℃条件下，每 mL 液体样本每分钟催化 1 μmol CDNB 与 GSH 结合定义为一个酶活力单位。

$$\text{GST (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 0.23 \times \Delta A$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，20 μL=0.02 mL； V 样总：粗酶液总体积，1 mL； V 反总：反应体系总体积，220 μL=2.2×10<sup>-4</sup> L； ε：GS-DNB 摩尔消光系数，9.6×10<sup>3</sup> L/mol/cm； d：微量石英比色皿光径，1 cm； Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL； W：样品质量，g； T：反应时间，300s=5 min； 10<sup>6</sup>：单位换算系数，1 mol=1×10<sup>6</sup> μmol。

### 3.2 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

将上述公式中微量石英比色皿光径（d=1 cm）更改为 96 孔 UV 板（d=0.5 cm）后进行计算即可。

#### 四、注意事项

- ①样品处理等过程均需要在冰上进行以免失活，粗酶液制备完成后须当天完成测定；
- ②测定细胞中 GST 活性时，细胞数目建议在 300-500 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若测定吸光度大于 1，建议将粗酶液使用蒸馏水稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ④准确在 10 s 和 310 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性；若使用 96 孔 UV 板测定，需使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；
- ⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**boxbio**

**Manufactured and Distributed by**

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

