



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 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 60 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 6 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、1 mL 石英比色皿、研钵/匀浆器、可调式移液器、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℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）中保温放置。
- ③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	100	-
试剂一	-	100
试剂二	900	900
试剂三	100	100

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℃（哺乳动物）或 25℃（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 ΔA 测定=A2 测定-A1 测定， ΔA 空白=A2 空白-A1 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定- ΔA 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

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：25℃或 37℃条件下，每 mg 组织蛋白每分钟催化 1 μmol CDNB 与 GSH 结合定义为一个酶活力单位。

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

- ②按组织样本质量计算

单位定义：25℃或 37℃条件下，每 g 组织每分钟催化 1 μmol CDNB 与 GSH 结合定义为一个酶活力单位。

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

- ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：25℃或 37℃条件下，每 10⁴ 个细菌或细胞每分钟催化 1 μmol CDNB 与 GSH 结合定义为一个酶活力单位。

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

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，100 μL=0.1 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，1100 μL=1.1×10⁻³ L；ε：GS-DNB 摩尔消光系数，9.6×10³ L/mol/cm；d：1 mL 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；10⁶：单位换算系数，1 mol=1×10⁶ μmol。

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反应过程中应保持 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）恒温，建议在烧杯中装入适量 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）蒸馏水，将此烧杯放入 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）恒温水浴中，在反应过程中把比色皿连同反应液放在此烧杯中；
- ⑤准确在 10 s 和 310 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性；
- ⑥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.

