



谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0130	谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 活性检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 50mL ×1 瓶	4°C
试剂二	液体 45mL ×1 瓶	4°C
试剂三	粉剂 ×1 瓶: 临用前加入 5mL 蒸馏水溶解。	4°C

一、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。**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。

二、自备材料

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

三、样品制备

- 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°C 离心 10min, 取上清置冰上待测。
- 2、细菌或培养细胞: 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°C, 离心 10min, 取上清置于冰上待测。
- 3、血液样品: 直接测定。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
- 2、试剂二、试剂三放置 37°C (哺乳动物) 或 25°C (一般物种) 水浴中保温 30min。
- 3、空白管检测: 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 10 s 吸光度记 A1, 37°C 水浴 5min 后, 快速取出测定吸光度记 A2。
- 4、测定管检测: 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 10 s 吸光度记 A3, 37°C 水浴 5min 后, 快速取出测定吸光度记 A4。

五、GST 活性的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

活性单位定义: 在 25°C 或者 37°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、按照样本鲜重计算:

活性单位定义: 在 25°C 或者 37°C 中, 每克样品每分钟催化 1 μ mol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活性单位。

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

3、按照细胞数量计算:

活性单位定义: 在 25°C 或者 37°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、按照液体体积计算:

活性单位定义: 在 25°C 或者 37°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: 1mol=1 $\times 10^6$ μ mol;
 $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 1100 μ L=0.0011 L; C_{pr} : 上清液蛋白质浓度 (mg/mL) 需要另外测定, 建议选用本公司生产的 BCA 蛋白质浓度测定试剂盒; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, 100 μ L=0.1 mL; T : 反应时间, 5min; W : 样品鲜重, g; $V_{\text{样总}}$: 试剂一体积, 1 mL。

六、注意事项

- 1、样品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 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、测定前先用 1~2 个样做预实验, 如 5min 内反应不成线性, 须对样品用蒸馏水稀释, 计算结果乘以稀释倍数。
- 4、若样品测定吸光度大于 1, 建议对样品用蒸馏水稀释, 计算时结果乘以稀释倍数。
- 5、测定反映的温度对测定结果有影响, 请控制在 25°C 或者 37°C (哺乳动物)。