

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。

产品内容：

试剂一：液体50mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体45mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前加5mL蒸馏水溶解。

需自备的仪器和用品：

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

操作步骤：

一、粗酶液提取：

- 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 (10⁴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：

- 1、分光光度计预热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1mL石英比色皿，加入100 μL试剂一，900 μL试剂二和100 μL试剂三，迅速混匀后于340nm测定10s吸光度记A1，37℃水浴5min后，快速取出测定吸光度记A2。
- 4、测定管：取1mL石英比色皿，加入100 μL上清液，900 μL试剂二和100 μL试剂三，迅速混匀后于340nm测定10s吸光度记A3，37℃水浴5min后，快速取出测定吸光度记A4。

三、GST活性计算：

(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1 μmol CDNB与GSH结合为一个酶活性单位。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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

(2) 按样本鲜重计算

活性单位定义：在25℃或者37℃中，每克样品每分钟催化1 μmol 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) 按细胞数量计算

活性单位定义：在25℃或者37℃中，每10⁴个细胞每分钟催化1 μmol 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℃或者37℃中，每毫升液体每分钟催化1 μmol 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， $9.6 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； d ：比色皿光径，1cm； 10^6 ： $1\text{mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$ ； $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， $1100 \mu\text{L} = 0.0011 \text{ L}$ ； 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； W ：样品鲜量，g； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中上清液体积， $100 \mu\text{L} = 0.1 \text{ mL}$ ； $V_{\text{样总}}$ ：试剂一体积，1mL； T ：反应时间（min），5min。

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、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℃或者37℃（哺乳动物）。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com