

谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1027

保存: 4°C 避光保存 12 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 血清 (浆)、动植物组织、细胞、细菌

产品简介

谷胱甘肽 S-转移酶 (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化合物, 易于从胆汁或尿液中排泄, 达到将体内各种潜在或具有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化合物的损伤中发挥着重要的生物学功能。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 催化反应会减少 GSH 含量, 但是不增加 GSSG 含量。本试剂盒提供了一种简单的检测方法, 用于检测生物样本, 如血清 (浆)、动植物组织、细胞、细菌样本中 GST 的活性。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

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4°C
显色物	10mL	20mL	4°C 避光保存
底物	1	1	4°C 避光保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计 (能测 340nm 处的吸光度)
96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
恒温箱、低温离心机、制冰机
去离子水
匀浆器 (如果是组织样本)

试剂准备

提取液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。
显色物: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 避光保存。
底物: 使用前加入 2mL 去离子水溶解; 4°C 避光保存。

样本制备

动植物组织: 称取 0.1g 组织样本, 加入 1mL 预冷的提取液, 快速冰上匀浆。匀浆后的样本, 8,000g, 4°C 离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。
细胞或细菌: 收集 5×10^6 细胞或细菌到离心管内, 用冷 PBS 清洗细胞, 离心后弃上清, 加入 1mL 提取液, 冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min (功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 重复 30 次), 然后 8,000g, 4°C 离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。
血清 (浆): 直接测定。

注意:

1. 样品处理等过程均需要在冰上进行, 如果不立即进行实验, 样本可在 -80°C 保存一个月。

产品说明书

2. 细胞中 GST 活性测定时，细胞数目须在 $3-5 \times 10^6$ 之间，细胞中 GST 的提取时可加提取液后匀浆或超声波处理，不能用细胞裂解液处理细胞。
3. 如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 340nm，可见紫外分光光度计去离子水调零。
2. 显色物和底物置于 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）孵育 15min。
3. 样本测定：在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入 20 μ L 样本，180 μ L 显色物和 20 μ L 底物，迅速混匀后于 340nm 测定吸光度变化，记录 10s 和 310s 吸光度为 A_1 和 A_2 。计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

注意：

1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。若 5min 内反应不成线性（可每分钟测定 1 次观察变化趋势），建议对样品用去离子水稀释，计算时结果乘以稀释倍数。
2. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）。
3. 因通过反应速率计算酶活，使用 96 孔 UV 板时请根据操作速度控制一次测定的样本数（通常一次测定 4-8 个样本）。

结果计算

A. 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义：在 25℃ 或 37℃ 中，每毫克蛋白在反应体系中每分钟催化 1nmol CDNB 与 GSH 结合。

$$\text{GST (U/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 460 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

活性单位定义：在 25℃ 或者 37℃ 中，每克样品在反应体系中每分钟催化 1nmol CDNB 与 GSH 结合。

$$\text{GST (U/g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 460 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细胞数量计算

活性单位定义：在 25℃ 或者 37℃ 中，每 10^4 个细胞在反应体系中每分钟催化 1nmol CDNB 与 GSH 结合。

$$\text{GST (U}/10^4 \text{ Cells)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 460 \times \Delta A \div 500 = 0.92 \times \Delta A$$

(4) 按液体体积计算

活性单位定义：在 25℃ 或者 37℃ 中，每毫升液体样本在反应体系中每分钟催化 1nmol CDNB 与 GSH 结合。

$$\text{GST (U/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 460 \times \Delta A$$

ϵ ：产物摩尔消光系数， 9.6×10^3 L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.5cm； 10^9 ：1mol = 1×10^9 nmol； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，220 μ L = 2.2×10^{-4} L；Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中上清液体积，20 μ L = 0.02 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，5min；500：细胞数量， 5×10^6 。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d：0.5cm 调整为 d：1cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1023 还原型谷胱甘肽（GSH）检测试剂盒（微量法）
- PMK1024 氧化型谷胱甘肽（GSSG）检测试剂盒（微量法）
- PMK1022 谷胱甘肽还原酶（GR）检测试剂盒（微量法）
- PMK1025 谷胱甘肽过氧化物酶（GPX）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

