

谷胱甘肽 S-转移酶(GST)试剂盒

- 【产品简介】 ◆谷胱甘肽转移酶(GST;EC 2.5.1.18)是一种具有多种生理功能的蛋白质家族,清除潜在毒性化合物,包括由氧化应激产生的物质,是细胞防御机制的一部分。
- ◆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。

【货号】 TC1013

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体125mL×1瓶	4℃	
试剂一	粉体×3瓶	-20℃	每瓶临用前甩几下使粉体落入底部,外加4mL 提取液溶解,可分装保存至-20℃,一个月内用完。
试剂二	液体1.5mL×1支	4℃	

【保存条件】 4℃保存,有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备:

① 组织样本:

称取约 0.1g组织(水分充足的样本可取0.2g),加入1mL 提取液,进行冰浴匀浆。12000rpm 4℃离心15min,取上清,置冰上待测。

注:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取

②细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取500万细菌或细胞加入1mL提取液;冰浴超声波破碎细菌或细胞(功率 300w,超声 3 秒,间隔7 秒,总时间 3min);12000rpm 4℃离心15min,取上清,置冰上待测。(或按照细菌或细胞数量(10^4 个):试剂一体积(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取)

注:不能用细胞裂解液处理细胞,为避免失活,应在冰上进行并当天完成测试。

③液体样本:直接检测。若浑浊,离心后取上清检测。

2、上机检测:

①酶标仪预热30min,温度设定37℃,调节波长到340nm。

②可先做 2个样本预测定,熟悉操作过程,并依据测出的吸光值 A 是否符

合预判做相应调整。

③在96孔板中依次按照下表加入试剂：

试剂名称 (uL)	测定管
样本	10
反应mix	190
混匀，37℃下，立即于340nm下读取A1值，5min后读取A2值， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

3、结果计算：

①按蛋白浓度计算：

活性单位定义：在上述反应条件下，每毫克蛋白每分钟催化1nmol的CDNB与GSH结合为1个酶活单位。

$$\text{GST}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \div \varepsilon \div d \times V2 \div 10^9] \div (\text{Cpr} \times V1) \div T$$

$$= 833.3 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

②按样本质量计算：

活性单位定义：在上述反应条件下，每克样品每分钟催化1nmol的CDNB与GSH结合为1个酶活单位。

$$\text{GST}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g鲜重}) = [\Delta A \div \varepsilon \div d \times V2 \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T$$

$$= 833.3 \times \Delta A \div W$$

③按细胞数量计算：

活性单位定义：在上述反应条件下，每 10^4 个细胞每分钟催化 1nmol的CDNB与GSH结合为1个酶活单位。

$$\text{GST}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell}) = [\Delta A \div \varepsilon \div d \times V2 \times 10^9] \div (\text{细胞数量} \times V1 \div V) \div T$$

$$= 833.3 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

④按液体体积计算：

活性单位定义：在上述反应条件下，每毫升液体每分钟催化1nmol的CDNB与GSH结合为1个酶活单位。

$$\text{GST}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [\Delta A \div \varepsilon \div d \times V2 \times 10^9] \div V1 \div T = 833.3 \times \Delta A$$

ε ---产物摩尔消光系数， $9.6 \times 10^3 \text{ L}/\text{mol}/\text{cm}$ ； d ---96 孔板光径，0.5cm；
 V ---提取液体积，1 mL； $V1$ ---样本加样体积， $10 \mu\text{L} = 0.01 \text{ mL}$ ；
 $V2$ ---反应体系总体积， $200 \mu\text{L} = 2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ； T ---反应时间，5min；
 W ---样品质量，g； Cpr ---上清液蛋白质浓度(mg/mL)

- 【注意事项】**
- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
 - 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
-