CheKine™ 谷胱甘肽 S-转移酶（GST）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1630　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

≠	**检测范围：**2-76 U/L		**灵敏度：**2 U/L
	适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）		
	保质期：4℃，避光保存 12 个月		

01 背景与原理

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。

本试剂盒检测原理是 GST 催化 GSH 与 CDNB 结合，其结合产物的光吸收峰波长为 340 nm；通过测定 340 nm 波长处吸光度上升速率，即可计算出 GST 活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Assay Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Chromogen	11 mL	22 mL	4℃，避光保存
Substrate	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	PBS/去离子水	样本清洗用/样本稀释用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、冰盒、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Assay Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Chromogen	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存；**Chromogen 对皮肤有刺激性，建议操作时做好防护**
Substrate Working Reagent	临用前配制；每管加入 2.4 mL 去离子水，混匀	实验过程中避光冰上放置；用不完的试剂 4℃避光保存 1 个月

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。细胞中 GST 活性测定时，细胞数目须在 3-5×10^6 之间，细胞中 GST 的提取时可加 Assay Buffer 后超声波处理，不能用细胞裂解液处理细胞。

- **动植物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 预冷的 Assay Buffer，冰浴匀浆，8000 g，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- **细胞或细菌**：收集 5×10^6 个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL 预冷的 Assay Buffer 进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），8000 g，4℃离心 10 min，取上清置于冰上待测。
- **血清（浆）**：直接测定。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：25℃（其它物种）或者 37℃（哺乳动物）预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。

2. **工作液的配制**：临用前配制，对于 96 孔板，按照每个孔配制 200μL 工作液，现配现用。吸取 180μL Chromogen 和 20μL Substrate Working Reagent。

3. **检测体系配制**：空白孔只需做 1 个即可。在 96 孔 UV 板中按照如下方式加样：

试剂	空白孔（μL）	测定孔（μL）
样本	0	20
Assay Buffer	20	0
工作液	200	200

4. **吸光度检测**：迅速混匀，立即测定 340 nm 处第 10 s 时吸光值为 A_1，置于 25℃（其它物种）或者 37℃（哺乳动物）孵育 5 min，记录第 5 min 10 s 时吸光值为 A_2。测定孔记为 $A_{测定}$，空白孔记为 $A_{空白}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn] > 进入“**技术中心**”> 查找“**在线计算器**”工具。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A=A_2-A_1$，$\Delta A_{测定}=A_{2\,测定}-A_{1\,测定}$，$\Delta A_{空白}=A_{2\,空白}-A_{1\,空白}$，$\Delta\Delta A=\Delta A_{测定}-\Delta A_{空白}$

2. 样本 GST 活性计算

- 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。

$GST\ (U/mg\ prot)=\Delta\Delta A\div(\varepsilon\times d)\times10^6\times V_{反总}\div(Cpr\times V_{样})\div T$**$=0.46\times\Delta\Delta A\div Cpr$**

- 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。

$GST\ (U/g)=\Delta\Delta A\div(\varepsilon\times d)\times10^6\times V_{反总}\div(V_{样}\div V_{样总}\times W)\div T$**$=0.46\times\Delta\Delta A\div W$**

- 按细胞或细菌数量计算

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每 10^4 个细胞或细菌每分钟催化 1 μmol CDNB 与 GSH 结合。

$GST\ (U/10^4)=\Delta\Delta A\div(\varepsilon\times d)\times10^6\times V_{反总}\div(N\times V_{样}\div V_{样总})\div T$**$=0.46\times\Delta\Delta A\div N$**

- 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。

$GST\ (U/mL)=\Delta\Delta A\div(\varepsilon\times d)\times10^6\times V_{反总}\div V_{样}\div T$**$=0.46\times\Delta\Delta A$**

ε：产物摩尔消光系数，9.6×10^3 L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.5 cm；10^6：单位换算系数，1 mol=1×10^6 μmol；$V_{反总}$：反应体系总体积，220 μL=2.2×10^{-4} L；Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g；$V_{样}$：加入反应体系中上清液体积，20 μL=0.02 mL；$V_{样总}$：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，5 min；N：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6，N=500）。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 玉米种子，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得$\Delta A_{测定}=A2_{测定}-A1_{测定}$ =0.56-0.431=0.129，$\Delta A_{空白}=A2_{空白}-A1_{空白}$=0.242-0.241=0.001，$\Delta\Delta A=\Delta A_{测定}-\Delta A_{空白}$=0.129-0.001=0.128。按样本质量计算得：GST 酶活(U/g)=0.46×ΔΔA÷W=0.589 U/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本ΔΔA 过高或者过低怎么办?**

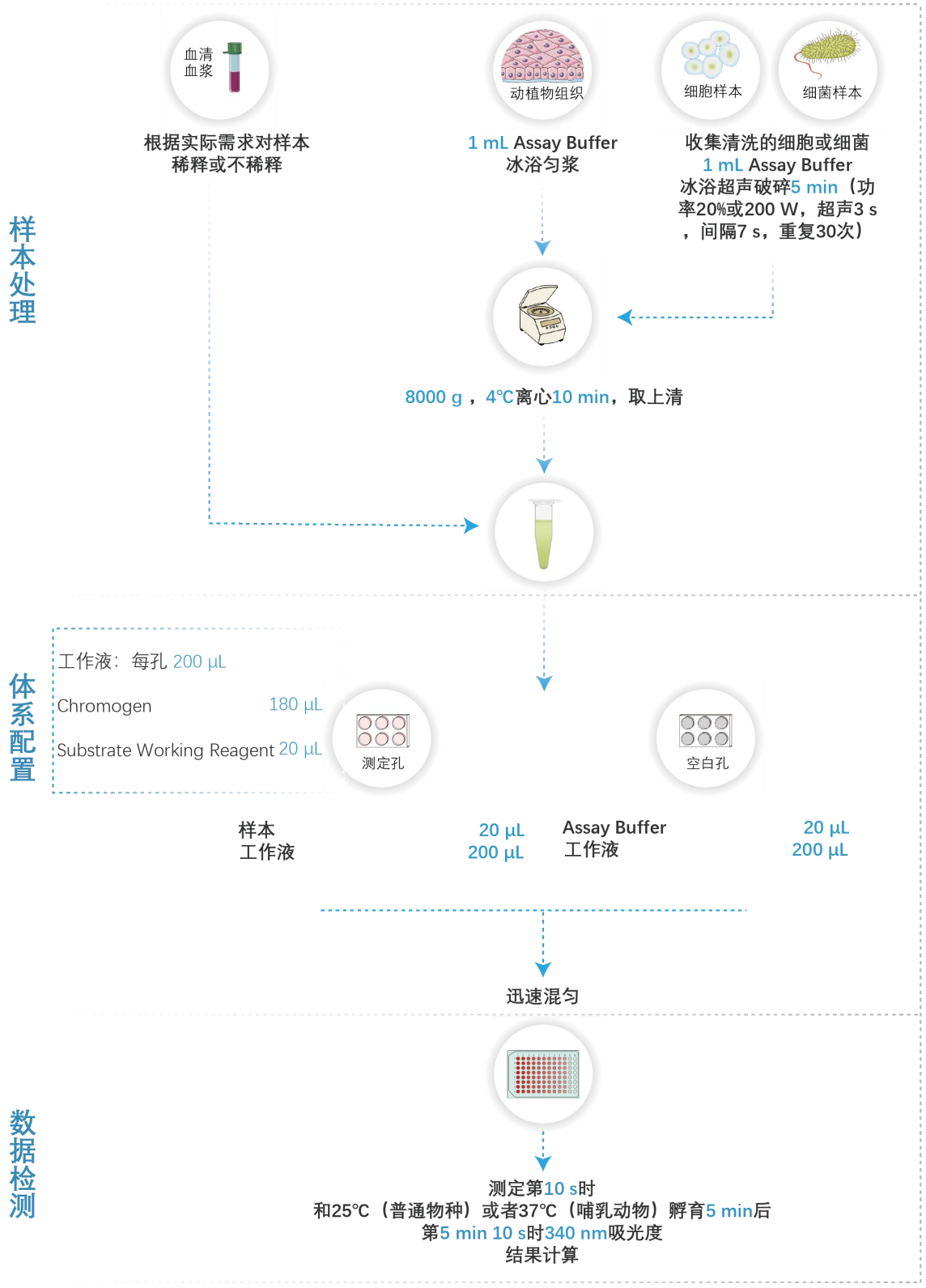
如果ΔΔA 小于 0.005 可适当加大样本量或延长反应到 10-15 min。如果ΔΔA 大于 1.0，样本可用去离子水进一步稀释，再重新进行测定。测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在 25℃（其它物种）或者 37℃（哺乳动物）。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1600	CheKine™ 还原型谷胱甘肽（GSH）检测试剂盒（微量法）
KTB1610	CheKine™ 氧化型谷胱甘肽（GSSG）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1620	CheKine™ 谷胱甘肽还原酶（GR）检测试剂盒（微量法）
KTB1640	CheKine™ 谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1650	CheKine™ 硫氧还蛋白还原酶（TrxR）检测试剂盒（微量法）
KTB1660	CheKine™ 硫氧还蛋白过氧化物酶（TPX）检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 谷胱甘肽S-转移酶（GST）活性检测流程示意图

（Abbkine 货号 ： KTB1630）



V1.0