谷胱甘肽 S-转移酶（GST）活性检测试剂盒说明书

规格：48 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。
2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	60 mL×1	4℃	
试剂二	11 mL×1	4℃	
试剂三	粉剂×1	4℃	临用前加 1 mL 蒸馏水溶解。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、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 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）进行冰浴匀浆，然后，10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 细菌/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 1 mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 200 w，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；然后 10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 液体样本：直接测定。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 340 nm 处。
2. 试剂三放在 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）保温。
3. 在 96 孔板中依次加入：

	测定管

样本（μL）	20
试剂二（μL）	180
试剂三（μL）	20
迅速混匀后于 340 nm 测定吸光度变化，记录 10 s 和 310 s 吸光度为 A1 和 A2，ΔA=A2-A1。	

六、计算

1. 按照样本质量计算：

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每克样品每分钟催化 1 nmol/L CDNB 与还原型谷胱甘肽结合为 1 个酶活单位。

GST（nmol/min/g 鲜重）＝ΔA÷ε÷d×10^9×V 反总÷（W×V 样÷V 样总）÷T

=383.33×ΔA÷W

2. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每毫克蛋白每分钟催化 1 nmol/L CDNB 与还原型谷胱甘肽结合为 1 个酶活单位。

GST（nmol/min/mg prot）＝ΔA÷ε÷d×10^9×V 反总÷（Cpr×V 样）÷T

=383.33×ΔA÷Cpr

3. 按细胞/细菌计算：

活性单位定义：在 25℃或者 37℃中，每 10^4 个细胞/细菌每分钟催化 1 nmol/L CDNB 与还原型谷胱甘肽结合为 1 个酶活单位。

GST（nmol/min/10^4cell）＝ΔA÷ε÷d×10^9×V 反总÷（N×V 样÷V 样总）÷T

=383.33×ΔA÷N

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 nmol/L CDNB 与还原型谷胱甘肽结合为 1 个酶活单位。

GST（nmol/min/mL）＝ΔA÷ε÷d×10^9×V 反总÷V 样÷T =383.33×ΔA

ε：产物摩尔消光系数，9.6×10^3 L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.6 cm；10^6：1mol=1×10^6μmol；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；V 样：加入反应体系中上清液体积，20 μL=0.02 mL；V 样总：提取液体积，1 mL；T：反应时间（min），5min；N：细胞数量（万个）

七、产品简介

谷胱甘肽 S-转移酶是关键解毒抗氧化酶，其活性可指示生物受重金属、氧化、外源污染物胁迫程度，作为抗逆与毒理评价核心指标。