谷胱甘肽 S-转移酶（glutathione S-transferase，GST）试剂盒说明书

（微板法 96 样 ）

一、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。

二、试剂盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 125mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体×3 瓶	-20℃保存	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	

【注】：反应 mix 的制备（现配现用）：按照试剂一：试剂二：提取液=10:1:9 的比例混匀。

三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、蒸馏水。

四、谷胱甘肽 S-转移酶（GST）活性检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

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。

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 30 min，温度设定 37℃，调节波长到 340 nm。

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（μL）	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，ΔA=A2-A1。	

【注】：1. 若ΔA 过小，可以延长反应时间（如：15min 或更长），或增加样本加样体系 V1（如增至 20μL，

则反应 mix 相应减少），则改变后的反应时间 T 和加样体积 V1 需代入计算公式重新计算。

2. 若 A2 大于 1.5，可以缩短反应时间（如 2min），或减少样本加样体系 V1（如减至 5μL，则反应 mix 相应增加），则改变后的反应时间 T 和加样体积 V1 需代入计算公式重新计算。

五、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。

GST(nmol/min/mg prot)=[ΔA÷ε÷d×V2×10^9]÷(Cpr×V1)÷T=833.3×ΔA ÷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。

GST(nmol/min/g 鲜重)=[ΔA÷ε÷d×V2×10^9]÷(W×V1÷V)÷T=833.3×ΔA÷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。

GST(nmol/min/10^4 cell)=[ΔA÷ε÷d×V2×10^9]÷(细胞数量×V1÷V)÷T=833.3×ΔA÷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。

GST(nmol/min/mL)=[ΔA÷ε÷d×V2×10^9]÷V1÷T =833.3×ΔA

ε---产物摩尔消光系数，9.6×10^3 L/mol /cm；　　d---96 孔板光径，0.5cm；

V---提取液体积，1 mL；　　V1---样本加样体积，10μL=0.01 mL；

V2---反应体系总体积，200μL=2×10^{-4} L；　　T---反应时间，5min；

W---样品质量，g；

Cpr----上清液蛋白质浓度（mg/mL），建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。