



谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0350

规格：50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 55 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	2-8℃保存

溶液配制：

试剂三：临用前加 6 mL 蒸馏水溶解，2-8℃保存 4 周。

产品说明：

谷胱甘肽 S-转移酶 (glutathione S-transferase, 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物质，易于从胆汁或尿液中排泄，达到将体内各种潜在或具备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子化合物的损伤中发挥着重要的生物学功能。此外，因为 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。注意，GST 催化的反应减少 GSH 含量，但是不增加 GSSG 含量。

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，即可计算出活性。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

紫外-可见分光光度计、低温离心机、水浴锅/培养箱、可调节移液器、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、1mL 石英比色皿、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一）进行冰浴匀浆。8000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量 (10⁴ 个)：试剂一体积 (mL) 为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 8000g，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。
3. 血清（血浆）等液体：直接测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm，用蒸馏水调零。
2. 根据样本量取部分试剂二置于 37°C 预热 15min。
3. 操作表：（在 1mL 石英比色皿中加入下列试剂）

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
试剂一	-	100
样本	100	
试剂二	900	900
试剂三	100	100

将上述试剂分别加入比色皿后迅速吹打混匀，记录第 10s 的吸光值 A1 测定（A1 空白），迅速置于 37°C 水浴或培养箱 5min，拿出迅速擦干测定 5min10s 时的吸光值 A2 测定（A2 空白），计算 $\Delta A = (A2 \text{ 测定} - A1 \text{ 测定}) - (A2 \text{ 空白} - A1 \text{ 空白})$ 。

空白管只需做 1-2 次。

三、GST 活性计算

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义：在 37°C 条件下，每毫克蛋白每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活性单位。

$$\text{GST 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V \text{ 反总} \div (\text{Cpr} \times V \text{ 样}) \div T = 0.23 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

活性单位定义：在 37°C 条件下，每克样本每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活性单位。

$$\text{GST 活性 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \div T = 0.23 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细胞数量计算

活性单位定义在 37°C 条件下，每 10⁴ 个细胞每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活单位。

$$\text{GST 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V \text{ 反总} \div (N \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 0.23 \times \Delta A \div N$$

(4) 按液体体积计算

活性单位定义：在 37°C 条件下，每毫升液体每分钟催化 1μmol CDNB 与 GSH 结合为一个酶活单位。

$$\text{GST 活性 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V \text{ 反总} \div V \text{ 样} \div T = 0.23 \times \Delta A$$

ϵ : 产物摩尔消光系数, 9.6×10³ L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; 10⁶: 单位换算系数, 1mol=1×10⁶μmol; V 反总: 反应体系总体积, 1100μL=0.0011 L; Cpr: 上清液蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定; V 样: 加入反应体系中上清液体积, 100μL=0.1 mL; T: 反应时间, 5min; W: 样本质量, g; V 样总: 试剂一体积, 1 mL; 细胞数量: 以 10⁴ 为单位, 万; N: 细胞数量, 以万计。

注意事项:

1. 样本处理等过程均需要在冰上进行，且须在当日测定酶活力；
2. 细胞中 GST 活性测定时，细胞数目须在 300 万-500 万之间，细胞中 GST 的提取时可加试剂一后研磨或超声波处理，不能用细胞裂解液处理细胞；
3. 若样本测定吸光度大于 1，建议将样本用蒸馏水稀释，计算时结果乘以稀释倍数；
4. 测定反应的温度对测定结果有影响，请将反应温度控制在 37°C。

实验实例:

1、取 0.1g 月季花朵加入 1mL 试剂一进行冰浴匀浆，8000g，4℃离心 10min，取上清，稀释 50 倍置冰上待测，按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A = (A2 \text{ 测定} - A1 \text{ 测定}) - (A2 \text{ 空白} - A1 \text{ 空白}) = (0.647 - 0.587) - (0.591 - 0.539) = 0.008$ ，按样本质量计算得：

GST 活性 (U/g 质量) = $0.23 \times \Delta A \div W \times 50$ (稀释倍数) = 0.92 U/g 质量。

2、取 0.1g 小鼠肝脏样本加入 1mL 试剂一进行冰浴匀浆，8000g，4℃离心 10min，取上清，稀释 500 倍置冰上待测，按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A = (A2 \text{ 测定} - A1 \text{ 测定}) - (A2 \text{ 空白} - A1 \text{ 空白}) = (0.824 - 0.543) - (0.591 - 0.539) = 0.229$ ，按样本质量计算得：

GST 活性 (U/g 质量) = $0.23 \times \Delta A \div W \times 500$ (稀释倍数) = 263.35 U/g 质量。

相关发表文献：

[1] Wensu Han, Yemeng Yang, Jinglin Gao, et al. Chronic toxicity and biochemical response of *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae) exposed to acetamiprid and propiconazole alone or combined. *Ecotoxicology*. May 2019;28(4):399-411.(IF2.46)

[2] Zhi Zhou, Xiaopeng Yua, Jia Tang, et al. Systemic response of the stony coral *Pocillopora damicornis* against acute cadmium stress. *Aquatic Toxicology*. January 2018;(IF3.794)

[3] Le Guan, Muhammad Salman Haider, Nadeem Khan, et al. Transcriptome Sequence Analysis Elaborates a Complex Defensive Mechanism of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) in Response to Salt Stress. *International Journal of Molecular Sciences*. December 2018;(IF4.183)

[4] Xing Wei, Xuejun Mo, Faliang An, et al. 2',4'-Dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone, a potent Nrf2/ARE pathway inhibitor, reverses drug resistance by decreasing glutathione synthesis and drug efflux in BEL-7402/5-FU cells. *Food and Chemical Toxicology*. September 2018;(IF3.775)

[5] Qiuli OuYang, Nengguo Tao, Miaoling Zhang. A Damaged Oxidative Phosphorylation Mechanism Is Involved in the Antifungal Activity of Citral against *Penicillium digitatum*. *Frontier in Immunology*. February 2018;(IF4.259)

[6] Chunsheng Li, Xianqing Yang, Ying Xu, et al. Cadmium detoxification induced by salt stress improves cadmium tolerance of multi-stress-tolerant *Pichia kudriavzevii*. *Environmental Pollution*. November 2018;(IF5.714)

[7] Xiao Hui Xu, Yinghui Guo, Hongwei Sun, et al. Effects of Phytase Transgenic Maize on the Physiological and Biochemical Responses and the Gut Microflora Functional Diversity of *Ostrinia furnacalis*. *Scientific Reports*. March 2018;(IF4.011)

相关系列产品：

- BC1170/BC1175 还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量检测试剂盒
- BC1180/BC1185 氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 含量检测试剂盒
- BC1190/BC1195 谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 活性检测试剂盒
- BC1160/BC1165 谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性检测试剂盒
- BC1150/BC1155 硫氧还蛋白氧化还原酶 (TrxR) 活性检测试剂盒
- BC1210/BC1215 γ -谷氨酰半胱氨酸连接酶 (GCL) 活性检测试剂盒
- BC1220/BC1225 γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 活性检测试剂盒