

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K800-M

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 酶标仪(400-420 nm)

Elabscience®谷胱甘肽 S-转移酶(GST)比色法 测试盒(DTNB 法)

Glutathione-S-Transferase (GST) Activity Assay Kit (DTNB Method)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)、动物组织中 GST 的酶活力。

检测原理

谷胱甘肽 S-转移酶(GST)具有催化还原型谷胱甘肽(GSH)与二硝基苯(CDNB)结合的能力,通过测定底物 GSH 在单位时间内与二硝基苯结合的速率来表示酶的活力,反应剩余的 GSH 与二硫代双二硝基苯甲酸(DTNB)作用生成的黄色硫代硝基苯甲酸阴离子(TNB),测定该阴离子浓度来计算出 GSH 的减少量。从而推算出谷胱甘肽 S-转移酶(GST)的酶活力。

本试剂盒检测组织样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用 BCA 法(货号: E-BC-K318-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格(Size)(96 T)	保存方式(Storage)
试剂一 (Reagent 1)	底物 (Substrate)	粉剂×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	储备液 (Stock Diluent)	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	终止液 (Stop Solution)	50 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	磷酸盐 (Phosphate)	15 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	DTNB 溶液 (DTNB Solution)	5 mL×1 瓶	2-8℃ 避光保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	标准品 (Standard)	粉剂×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	标准品贮备液 (Standard Stock Solution)	3 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(检测波长范围 400-420 nm，最佳检测波长 412 nm)，恒温箱。

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 基质液的配制：

取1瓶试剂一用10 mL试剂二溶解，2-8℃保存1天。

③ 试剂七应用液配制：

按体积比试剂七：双蒸水=1：9配制，2-8℃保存3天。

④ 1 mmol/L标准品溶液配制：

取一支试剂六用10 mL试剂七应用液溶解，即为1 mmol/L标准品溶液，2-8℃保存3天。

⑤ 250 μmol/L标准品溶液配制：

1 mmol/L标准品溶液与试剂七应用液按体积比1：3进行稀释，即为250 μmol/L标准品溶液，2-8℃保存3天。

⑥ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μmol/L)	0	25	75	100	125	150	200	250
250 μmol/L GSH 标准品(μL)	0	30	90	120	150	180	240	300
试剂七应用液(μL)	300	270	210	180	150	120	60	0

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：可直接测定。

组织样本：组织样本匀浆液为 PBS(0.01 M, pH 7.4)或生理盐水(0.9% NaCl)。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：2.1-92.8 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清(血浆)	不稀释	10%大鼠肾组织	不稀释
马血清	不稀释	10%大鼠脑组织	不稀释
大鼠血清	不稀释	10%大鼠肝组织	不稀释
兔血清	不稀释	10%大鼠脾组织	不稀释
猪血清	不稀释	10%大鼠肺组织	不稀释

注：稀释液为 PBS(0.01 M, pH 7.4)或生理盐水(0.9% NaCl)。

实验关键点

- ① 必须严格控制反应时间及操作时间。
- ② 显色反应时，小心吸取孵育反应后的上清液，切勿将沉淀吸入。

操作步骤

酶促反应

- ① 非酶管：取 60 μL 基质液加入至 1.5 mL EP 管中。
酶管：取 60 μL 基质液，20 μL 样本加入至 1.5 mL EP 管混匀。
- ② 将步骤①中各管 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。
- ③ 取 400 μL 试剂三，20 μL 样本加入至步骤②非酶管中混匀。
取 400 μL 试剂三，加入至步骤②酶管中混匀。
- ④ 各管 3500 $\times g$ 离心 10 min，取上清液 100 μL 进行显色反应。(若上清液中有沉淀，吸取上清液至新 EP 管中，重新离心)。

显色反应

- ① 标准孔：取 100 μL 不同浓度的标准品溶液加入酶标板对应标准孔中。
非酶孔：取 100 μL 非酶管上清液加入酶标板对应非酶孔中。
酶孔：取 100 μL 酶管上清液加入酶标板对应酶孔中。
- ② 向步骤①各孔中加入 100 μL 试剂四，25 μL 试剂五。
- ③ 酶标仪振板 5 s，静置 5 min，酶标仪于波长 412 nm 处检测各孔吸光度。

操作表

酶促反应

	非酶管	酶管
基质液(μL)	60	60
待测样本(μL)		20
混匀, 37℃ 孵育 30 min		
试剂三(μL)	400	400
待测样本(μL)	20	
混匀, 各管 3500 \times g 离心 10 min, 取上清液 100 μL 进行显色反应。(若上清液中有沉淀, 吸取上清液至新的 EP 管中, 重新离心)		

显色反应

	标准孔	非酶孔	酶孔
标准品溶液(μL)	100		
非酶管上清液(μL)		100	
酶管上清液(μL)			100
试剂四(μL)	100	100	100
试剂五(μL)	25	25	25
酶标仪振板 5 s, 静置 5 min, 酶标仪于波长 412 nm 处检测各孔吸光度。			

本试剂盒检测组织样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清、血浆等液体样本:

定义: 在 37℃ 条件下, 每分钟每升液体使 GSH 浓度降低 1 μmol/L 所需要的酶量为一个酶活单位。

$$\text{GST 活力} \begin{matrix} \text{(U/L)} \end{matrix} = (\Delta A_{412} - b) \div a \div t \times 24 \times f$$

组织匀浆样本:

定义: 在 37℃ 条件下, 每分钟每克组织蛋白使 GSH 浓度降低 1 μmol/L 所需要的酶量为一个酶活单位。

$$\text{GST 活力} \begin{matrix} \text{(U/gprot)} \end{matrix} = (\Delta A_{412} - b) \div a \div t \times 24 \times f \div C_{pr}$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{412} : 非酶孔 OD 值-酶孔 OD 值

t: 酶促反应时间(30 min)

24: 酶促反应中样本的稀释倍数

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度(gprot/L)

f: 样本加入检测体系之前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

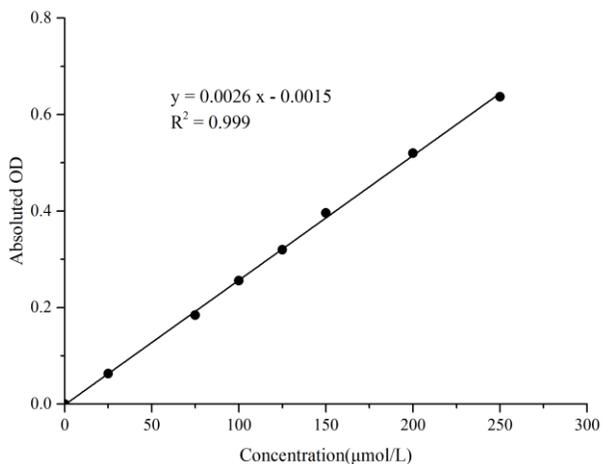
检测范围	2.1-92.8 U/L	平均批间差	6.4 %
灵敏度	2.1 U/L	平均批内差	1.8 %
平均回收率	105 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量100 μL , 按照操作步骤进行实验, 于酶标仪412 nm 处测得各浓度标准品OD值如下表所示:

标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	0	25	75	100	125	150	200	250
OD 值	0.054	0.118	0.238	0.310	0.375	0.450	0.574	0.691
	0.054	0.116	0.237	0.310	0.374	0.450	0.573	0.691
平均 OD 值	0.054	0.117	0.238	0.310	0.374	0.450	0.574	0.691
绝对 OD 值	0.000	0.063	0.184	0.256	0.320	0.396	0.520	0.637

②按上表数据绘制标准曲线, 如下图所示:



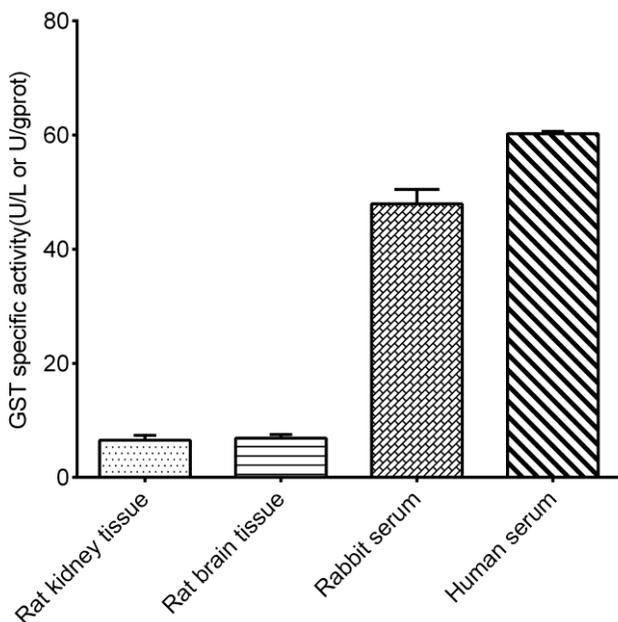
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取20 μL 人血清, 按操作表操作, 结果如下: 酶孔OD值: 0.411, 非酶孔OD值: 0.612, 标准曲线: $y = 0.0026x - 0.0017$, 计算结果为:

$$\text{GST活力 (U/L)} = (0.612 - 0.411 + 0.0017) \div 0.0026 \div 30 \times 24 = 62.4 \text{ U/L}$$

按照说明书操作, 测定大鼠肾组织(10%组织匀浆蛋白含量5.36 gprot/L , 加样量为20 μL)、大鼠脑组织(10%组织匀浆蛋白含量3.11 gprot/L , 加样量为20 μL)、兔血清(加样量为20 μL)、人血清(加样量为20 μL)中的GST酶活力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	显色反应样本上清液中有浑浊	重复离心，小心吸取上清液

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Zhang X, He C, Chen Y, et al. Cyclic reactions-mediated self-supply of H₂O₂ and O₂ for cooperative chemodynamic/starvation cancer therapy[J]. *Biomaterials*, 2021, 275:120987-. IF:12.479
2. Xia H, Scholtes C, Dufour CR, et al. Insulin action and resistance are dependent on a GSK3 β -FBXW7-ERR α transcriptional axis. *Nat Commun.* 2022; 13 (1):2105. IF:14.919
3. Liu Q, Zhang T X, Zheng Y D, et al. Calixarene-Embedded Nanoparticles for Interference-Free Gene-Drug Combination Cancer Therapy[J]. *Small*, 2021, 2006223. IF:11.459
4. He C, Zhang X, Chen C, et al. A solid lipid coated calcium peroxide nanocarrier enables combined cancer chemo/chemodynamic therapy with O₂/H₂O₂ self-sufficiency[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 122. IF:8.203
5. Chen L, Tao F, Zhang Y, et al. Islet-cell autoantigen 69 accelerates liver regeneration by downregulating Tgfb1 and attenuating Tgf β signaling in mice[J]. *FEBS Letters*, 2020, 594(17). IF:6.665
6. Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2021:2001133. IF:5.914
7. Wang C, Ma C, Fu K, et al. Phillygenin Attenuates Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis via Modulating Inflammation and Gut Microbiota[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 9, 21. IF:5.81
8. Du Y Q, Zheng Y Z, Yu C X M, et al. The Mechanisms of Yu Ping Feng San in Tracking the Cisplatin-Resistance by Regulating ATP-Binding Cassette Transporter and Glutathione S-Transferase in Lung Cancer Cells[J].*Frontiers in Pharmacology*, 2021; 12: 678126. IF:5.81
9. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. *Pharmacological Research*, 2019, 147, 104357. IF:5.574
10. Cao X, Liang Y, Liu R, et al. Uncovering the Pharmacological Mechanisms of Gexia-Zhuyu Formula (GXZY) in Treating Liver Cirrhosis by an Integrative Pharmacology Strategy. *Front Pharmacol.* 2022; 13:793888. IF:5.331
11. Wang Y, Xie W, Feng Y, et al. Epithelial-derived exosomes promote M2 macrophage

- polarization via Notch2/SOCS1 during mechanical ventilation. *Int J Mol Med.* 2022; 50 (1). IF:5.314
12. Jung D S, Son Y J, Shin J M, et al. Gymnaster Koraiensis Extract Alleviated Metabolic Syndrome Symptoms and Stimulated UCP1 -Independent Energy Consumption via AMPK Activation in White Adipose Tissue[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2020. IF:5.309
 13. Ali A K, Komal A K, Almutairi S M, et al. Natural killer cell-derived IL-10 prevents liver damage during sustained murine cytomegalovirus infection[J]. *Frontiers in immunology*, 2019, 10: 2688. IF:5.085
 14. Xu Y , Zhang Y , Xu Y , et al. Activation of CD137 signaling promotes macrophage apoptosis dependent on p38 MAPK pathway-mediated mitochondrial fission[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2021 Jul;136:106003. IF:5.085
 15. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. *Life Sciences* 266 (2021) 118876. IF:5.037
 16. Ahmed A E, Alshehri A, Al-Kahtani M A, et al. Vitamin E and selenium administration synergistically mitigates ivermectin and doramectin-induced testicular dysfunction in male Wistar albino rats[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 124: 109841. IF:4.545
 17. Su S, Tian H, Jia X, et al. Mechanistic insights into the effects of SREBP1c on hepatic stellate cell and liver fibrosis[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
 18. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
 19. Dejan Lazić, Andreas Scheurer, Dušan Čočić, et al. New bis-pyrazolopyridine ruthenium(III) complex as a potential anticancer drug: In vitro and in vivo activity in murine colon cancer[J]. *Dalton Transactions*, 2021 Jun; 50(22):7686-7704. IF:4.39
 20. Li X, Lv Z, Chen J, et al. *Bacillus amyloliquefaciens* B10 can alleviate liver apoptosis and oxidative stress induced by aflatoxin B1[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2021, 151:112124. IF:4.06