

(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-K278-S

产品规格: 50 assays(48 samples)/100 assays(96 samples)

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计(340 nm)

Elabscience®谷胱甘肽 S-转移酶 (GST)

比色法测试盒

Glutathione-S-Transferase (GST) Activity Assay Kit

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）、动植物组织、细胞中 GST 的活力。

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 底物）结合的能力，其结合产物在波长 340 nm 处有一吸收峰；通过测定 340 nm 波长处吸光度上升速率，即可计算出 GST 活性。

本试剂盒检测组织和细胞样本时，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 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extracting Solution)	60 mL×1 瓶	60 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	粉剂 (Powder)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月

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：紫外-可见分光光度计（340 nm）

试剂：双蒸水或去离子水

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂三应用液的配制：

取1瓶试剂三，加入5 mL双蒸水溶解，混匀即可，2-8℃保存3天。试剂三应用液37℃预热时用多少取多少。

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：直接进行测定。

组织样本：取 0.020-1.0 g 新鲜组织块，用 2-8°C 的 PBS (0.01 M, pH 7.4) 漂洗，去除血液，滤纸吸干，称重，放入匀浆容器中，按照重量 (g) : 体积 (mL) = 1: 9 的比例加入 2-8°C 的试剂一，进行匀浆，4°C，10000 ×g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

细胞样本：收集细胞，按照 10⁶ 个细胞加入 300 μL 试剂一的比例加入试剂一，进行机械匀浆，充分破碎（无明显的细胞沉淀，可在显微镜下观察），4°C，10000 ×g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择差异较大的 2-3 个样本稀释成不同浓度进行预实验，使样本 5 min 内反应成线性，进行正式批量实验。不同样本稀释比例范围如下表（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% 大鼠肾匀浆	10-15
10% 大鼠肺匀浆	8-12	10% 植物组织匀浆	不稀释
10% 大鼠肝匀浆	150-200		

注：稀释液为双蒸水或试剂一。

实验关键点

- ① 必须严格控制反应时间及操作时间。
- ② 比色皿及试剂三应用液必须要 37°C 预热 10 min。

操作步骤

- ① 比色皿、试剂二及试剂三应用液提前于 37°C 预热 10 min。
- ② 紫外分光光度计 340 nm，1 mL 石英比色皿，双蒸水调零。
- ③ 空白管/测定管：取 0.1 mL 试剂一/待测样本，加入 2 mL EP 管中。
- ④ 向步骤③中的 EP 管加 0.9 mL 试剂二，0.1 mL 试剂三应用液，立刻计时，迅速混匀。
- ⑤ 倒入 1 mL 石英比色皿，于 340 nm 波长，双蒸水调零，记录第 20 s 吸光度 A_1 ，37°C 反应，第 305 s 取出，记录第 320 s 吸光度 A_2 。
- ⑥ 求出 2 次吸光度差值 ($\Delta A_{\text{空白/测定}} = A_2 - A_1$)。

操作表

比色皿、试剂二及试剂三应用液 37°C 预热 10 min		
	空白管	测定管
试剂一 (mL)	0.1	--
待测样本 (mL)	--	0.1
试剂二 (mL)	0.9	0.9
试剂三应用液 (mL)	0.1	0.1
立刻计时，迅速混匀，340 nm 波长，双蒸水调零，1 mL 石英比色皿，测定第 20 s 吸光度 A_1 ，37°C 反应，第 305 s 取出，记录第 320 s 吸光度 A_2 ， $\Delta A_{\text{空白/测定}} = A_2 - A_1$ 。		

本试剂盒检测组织或细胞样本时，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

血清、血浆等液体样本：

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

$$\text{GST 活力 (U/mL)} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times d} \times 10^6 \div t \times \frac{V_1}{V_2} \times f$$

组织、细胞中样本：

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

$$\text{GST 活力 (U/mgprot)} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times d} \times 10^6 \div t \times \frac{V_1}{V_2} \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解：

ΔA ： $\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$

ε ：产物摩尔消光系数， $9.6 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$

d ：比色皿光径（1 cm）

10^6 ：1 mol = $10^6 \mu\text{mol}$

t ：反应时间（5 min）

V_1 ：反应体系总体积（1.1 mL = 0.0011 L）

V_2 ：加入反应体系中待测样本体积（0.1 mL）

C_{pr} ：待测样本的蛋白浓度（mgprot/mL）

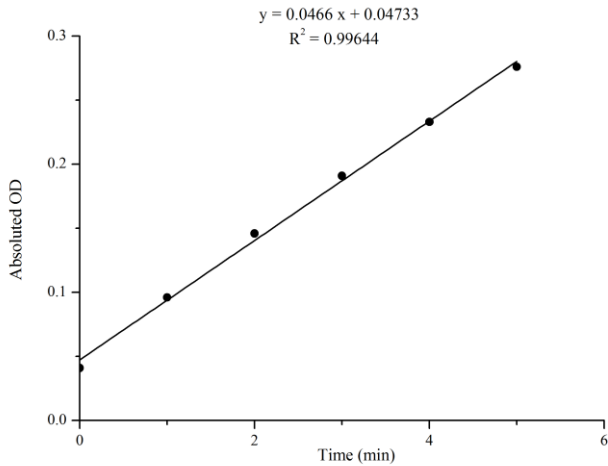
f ：样本加入检测体系之前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	1-79 U/L	平均批间差	4.3 %
灵敏度	1 U/L	平均批内差	1.9 %
平均回收率	105 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

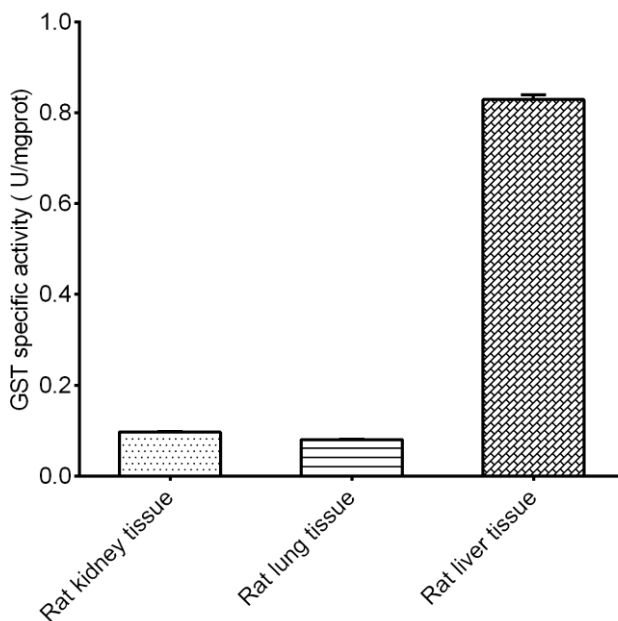
例如检测大鼠肾组织(数据仅供参考):

将10%大鼠肾匀浆:试剂一=1:14稀释,取0.1 mL稀释后的匀浆,按操作表操作,结果如下:空白管A₁平均OD值为0.414,空白管A₂平均OD值为0.437;测定管A₁平均OD值为0.464,测定管A₂平均OD值为0.729,同时测得10%匀浆蛋白浓度8.51 mgprot/mL,计算结果为:

$$\Delta A = (0.729 - 0.464) - (0.437 - 0.414) = 0.242$$

$$\text{GST 活力 (U/mgprot)} = \frac{0.242}{1 \times 9.6 \times 10^3} \times 10^6 \div 5 \times \frac{0.0011 \text{ L}}{0.1 \text{ mL}} \times 15 \div 8.51 \text{ mgprot/mL} = 0.098 \text{ U/mgprot}$$

按照说明书操作,测定大鼠肾组织(10%组织匀浆的蛋白含量8.51 mg/mL,稀释15倍,加样量为0.1 mL)、大鼠肺组织(10%组织匀浆的蛋白含量4.72 mg/mL,稀释8倍,加样量为0.1 mL)、大鼠肝组织(10%组织匀浆的蛋白含量13.74 mg/mL,稀释200倍,加样量为0.1 mL)中的GST活力(如图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	未严格按照说明书操作	操作前认真阅读操作步骤和注意事项
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取用新鲜样本，重新检测
样本值偏低	比色皿或试剂三应用液未预热	将比色皿及试剂三应用液预热后重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

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. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H₂O₂ generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675
11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on

- monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
 13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
 14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
 15. Chagas TQ, Freitas N, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
 16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
 17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
 18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
 19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
 20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
 21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell

Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113

22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- β Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508