

谷胱甘肽—S 转移酶(GST)测定试剂盒

比色法：100 管/48 样

一、试剂组成及配制：

	试剂组成	规格	保存条件
试剂一	甲粉	粉剂×1 支	2~8℃保存
	甲液的配制：用时加 1ml 无水乙醇充分溶解，2~8℃保存		
	乙液	60ml×1 瓶	2~8℃保存
试剂一应用液的配制：甲液：乙液=1：59 的比例进行配制，现用现配			
试剂二	甲粉	粉剂×1 瓶	2~8℃保存
	乙液	50ml×1 瓶	2~8℃保存
试剂二应用液的配制：将甲粉加 90~100℃的热双蒸水 170ml，充分完全溶解，将甲乙两种溶液充分混合， 此为过饱和溶液室温保存。出现结晶，直接取上清进行实验。			
试剂三	白色粉末	粉剂×1 瓶	2~8℃保存
试剂三应用液配制：加双蒸水 200ml，充分溶解用我所送塑料瓶室温保存			
试剂四	淡黄色粉末	粉剂×1 支	2~8℃保存
试剂四应用液的配制：加双蒸水 50ml，充分溶解，避光 2~8℃冷藏保存。			
试剂五	GSH 标准品	3.07mg 粉剂×3 支	2~8℃保
试剂六	GSH 标准溶剂贮备	10ml×1 瓶	2~8℃保

GSH 标准溶剂应用液配制: GSH 标准溶剂贮备液:双蒸水=1:9 的比例进行 10 倍稀释 1mmol/L 的 GSH

标准溶液的配制: 取 3.07mg 的 GSH 标准品一支加到已配好的 GSH 标准品溶剂应用液 10ml 中混匀溶解。
20 mol/L 的 GSH

标准品溶液的配制: 取 1mmol/L 的 GSH 标准溶液 0.2ml 加标准品溶剂应用液 9.8ml。

基质液的配制: 试剂一应用液与 1mmol/L 的 GSH 标准溶液以 1:1 混合而成。

[注]: 试剂盒 2~8℃密封保存, 有效期 6 个月

二、适用范围:

本试剂盒适用于检测血清、组织、培养细胞等中谷胱甘肽-S 转移酶的活性。

三、所需仪器:

可见分光光度计(412nm)、37℃恒温水浴箱、低速离心机

四、样本前处理

1、50 倍稀释的溶血液的配制: 取肝素抗凝全血 20 μ l, 以双蒸水稀释至 1ml, 混匀, 放置 5 分钟进行测定。配制好的溶血液要在 1 小时内测定完, 否则影响酶活力; 抗凝全血若当天来不及测定可放冰箱 4℃保存, 2~3 天内酶活力变化不大。

2、组织匀浆、线粒体、微粒体等的制备见实验方法学部分。

3、血清或血浆可以直接取样。

五、操作步骤:

(一)、血清(浆)中 GST 活力测定:

1、酶促反应

	测定管	对照管
基质液(ml)	0.3	0.3
血清(浆)(ml)	0.1	
混匀, 37℃水浴 30 分钟		
试剂二应用液(ml)	2	2
血清(浆)(ml)		1
混匀, 3500~4000 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液作显色反应。		

2、显色反应:

	空白管	标准管	测定管	对照管
GSH 标准溶剂应用液(ml)	2			
20 mol/LGSH 标准溶液(ml)		2		
上清液(ml)			2	2
试剂三应用液(ml)	2	2	2	2
试剂四应用液(ml)	0.5	0.5	0.5	0.5
混匀室温放置 15 分钟, 1cm 光径, 双蒸水调零 412nm 测各管 OD 值。				

3、单位定义：

规定每毫升血清（浆）在 37℃ 反应 1 分钟，扣除非酶促反应，使反应体系中 GSH 浓度降低 1 mol/L 为一个酶活力单位。

(二)、组织中 GST 活力测定：

1、酶促反应

	测定管	对照管
基质液(ml)	0.3	0.3
待测匀浆上清液(ml)	1	
混匀，37℃ 水浴 10 分钟（准确计时）		
试剂二应用液(ml)	1	1
无水乙醇(ml)	1	1
待测匀浆上清液(ml)		0.1
混匀，3500~4000 转/分，离心 10 分钟，取上清液作显色反应。		

2、显色反应：

	空白管	标准管	测定管	对照管

GSH 标准溶剂应用液(ml)	2			
20 mol/LGSH 标准溶液(ml)		2		
上清液(ml)			2	2
试剂三应用液(ml)	2	2	2	2
试剂四应用液(ml)	0.5	0.5	0.5	0.5
混匀室温放置 15 分钟，1cm 光径，双蒸水调零 412nm 测各管 OD 值。				

3、

4、单位定义：

规定每毫克组织蛋白，在 37℃反应 1 分钟扣除非酶促反应，使反应体系中 GSH 浓度降低 1 mol/L 为一个酶活力单位。

(三)、50 倍稀释溶血液中 GST 活力测定：

1、酶促反应

	测定管	对照管
基质液(ml)	0.2	0.2
待测匀浆上清液(ml)	0.2	

混匀，37℃水浴 30 分钟		
试剂二应用液(ml)	2	2
待测匀浆上清液(ml)		0.2
混匀，3500~4000 转/分，离心 10 分钟，取上清液作显色反应。		

2、显色反应:

	空白管	标准管	测定管	对照管
GSH 标准溶剂应用液(ml)	2			
20 mol/LGSH 标准溶液(ml)		2		
上清液(ml)			2	2
试剂三应用液(ml)	2	2	2	2
试剂四应用液(ml)	0.5	0.5	0.5	0.5
混匀室温放置 15 分钟，1cm 光径，双蒸水调零 412nm 测各管 OD 值。				

3、单位定义:

规定每毫升全血在 37℃反应 1 分钟，扣除非酶促反应，使反应体系中 GSH 浓度降低 1 mol/L 为一个酶活力单位

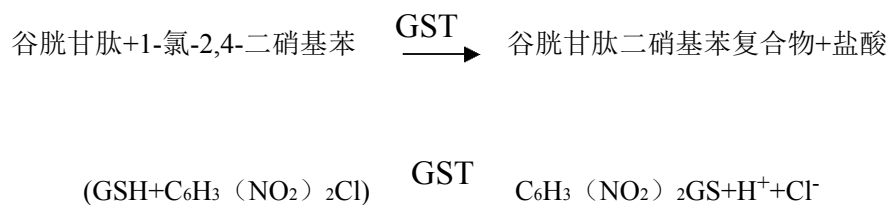
六、测定意义:

谷胱甘肽 S-转移酶 (glutathione S-transferase GST) 是一类与肝脏解毒有关的酶，在肝细胞中存在量很大，所以当肝细胞受损害时，GSH-ST 常常很早释放到血中，血中 GSH-ST 的升高常常早于谷丙转氨酶 (SGPT) 和谷草转氨酶 (SGOT)，因而 GSH-ST 的升高可作为肝脏损伤的敏感指标。

谷胱甘肽 S-转移酶广泛存在于哺乳动物各组织中，催化谷胱甘肽 (GSH) 与化学物质的亲电子基团结合，最终形成硫醚氨酸排出体外，在体内解毒功能上起重要作用。

GSH-ST 具有消除体内过氧化物及解毒双重功能。GST 在谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活力低下的条件下，只有清除体内脂质过氧化物 (LPO) 的功能。

七、测定原理:



具有催化还原型谷胱甘肽 (GSH) 与 1-氯-2,4-二硝基苯 (CDNB 底物) 结合的能力，在一定反应时间内，其活性高低与反应前后底物浓度的变化呈线性关系。

八、注意事项:

- 1、管子要洗干净，先用温肥皂水刷净，再用自来水冲 20 遍以上，最后用双蒸水过 1-2 次后烘干即可。
- 2、2 号试剂配制时要加热充分溶解 (温度可达 90℃~100℃)。

- 3、肝素抗凝全血放置冰箱存放时间不可超过 3 天，血浆、组织块放-20℃可保存一个月以上。
- 4、1 号试剂配成贮备液后，冰箱冷藏至少可保存一个月。
- 5、1mmol/L 的 GSH 底物现用现配。
- 6、上清液当天提取，当天测试。
- 7、组织蛋白的测定方法有多种，本研究所有供应。
- 8、样品前处理参照实验方法学部分。
- 9、本试剂盒仅用于科研、实验室。