

谷胱甘肽S转移比色法试剂盒

(DTNB法)

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号: JL-T2482

有效期: 6个月

规格: 48T(20S)/96T(44S)

保存温度: 2-8°C/-20°C

实验原理：

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。本试剂盒检测组织和细胞样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用 BCA 法(货号: JL-T0336)。

检测范围: 0.83-33.3U/L 灵敏度: 0.83U/L

注意事项：

1. 不能使用过期产品,不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用,以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病,所有的样品都应管理好,按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存,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。试剂盒中如有提供粉剂,使用前请甩几下,使粉剂落入底部。

产品组成:

试剂名称	规格 (48T/20S)	规格 (96T/44S)	保存条件
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃, 避光
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃, 避光
试剂三	60mL×1 瓶	120mL×1 瓶	2-8℃
试剂四	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	2-8℃, 避光
试剂五	1mL×1 瓶	2mL×1 瓶	2-8℃, 避光
试剂六	8mL×1 瓶	16mL×1 瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃, 避光

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、无水乙醇、恒温箱或水浴锅。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.83-33.3U/L, 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, 样本的稀释液为试剂三。

2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本**：按照组织质量(g)：试剂三体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂三)冰浴匀浆，10000 g，4℃离心 10min，取上清，即粗酶液。
4. **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；按照细菌或细胞数量 (10^4 个)：试剂三体积 (mL) 为 500~1000:1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂三)，超声波破碎细菌或细胞 (冰浴，功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次)；10000 g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
5. **血清 (浆) 等液体样本**：澄清液体直接测定，若浑浊则离心后取上清液检测。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. 试剂一：临用前取一瓶试剂一加入 3mL 试剂三，混合均匀，现配现用。
3. 试剂二：临用前取一瓶加入 0.5mL 无水乙醇超声溶解，现用现配。
4. 工作液的配制：临用前按试剂一:试剂二:试剂三=100:10:40 的体积比例配制。
5. **标准品溶液的配制**：取一瓶标准品加入 1mL 试剂三混合均匀为 10mmol/L 标准品，取 10mmol/L 标准品 0.3mL 加入 2.7mL 试剂三混合均匀为 1mmol/L 标准品，4 小时内使用完。标准品溶液按下表加入对应量的试剂三稀释成以下浓度梯度的标准品工作液：0 μ mol/L、25 μ mol/L、50 μ mol/L、100 μ mol/L、200 μ mol/L、500 μ mol/L、700 μ mol/L、1000 μ mol/L。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度 (μ mol/L)	0	25	50	100	200	500	700	1000
1mmol/L 标 准品(μ L)	0	25	50	100	200	500	700	1000
试剂三(μ L)	1000	975	950	900	800	500	300	0

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果
 咨询电话：400-0066-400
 网址：www.jonln.com

即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用试剂三稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 412nm。
2. 酶促反应(在 EP 管中依次加入):

试剂名称(μL)	测定管	对照管
工作液	60	60
待测样本	20	
混匀, 37°C 孵育 30min		
试剂四	200	200
待测样本		20
混匀, 各管 3500 g 离心 10min, 取上清液 20 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)		

3. 显色反应(在 96 孔板中依次加入):

试剂名称(μL)	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度标准品	20		
样本上清		20	20
试剂五	20	20	20
试剂六	160	160	160
混匀, 静置 2min 后于 412nm 检测各孔吸光值。			

实验结果结算：

1. **标准品拟合曲线：** $y=ax+b$ 。

2. **血清、血浆等液体样本：**

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

$$\text{GST 活力(U/L)}=(\Delta A-b)\div a\div T\times 14\times N$$

3. **组织匀浆样本：**

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

$$\text{GST 活力(U/gprot)}=(\Delta A-b)\div a\div T\times 14\times N\div \text{Cpr}$$

注：

ΔA ：对照孔 OD 值-测定孔 OD 值

14：酶促反应中样本的稀释倍数

T：酶促反应时间，30min

Cpr：待测样本的蛋白浓度，mg/mL

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

N：样本加入检测体系之前的稀释倍数

x：标准品的浓度

y：标准品 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

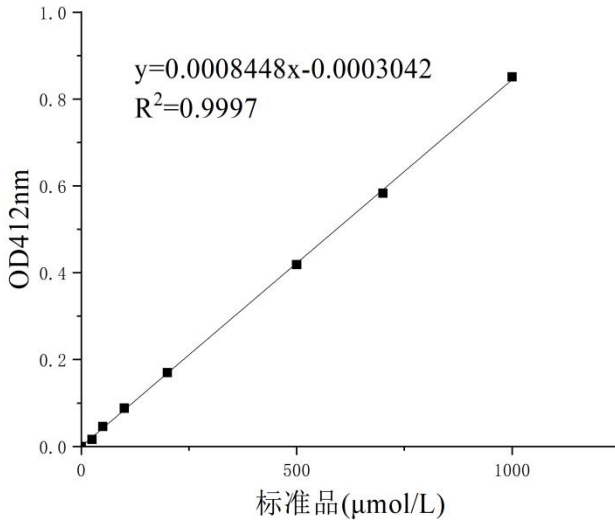
参考样本数据：

以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
大鼠肝脏 (10%匀浆)	不稀释	2.73U/gprot
大鼠肾脏 (10%匀浆)	不稀释	1.38U/gprot
生菜叶片 (10%匀浆)	不稀释	3.46U/gprot

参考曲线:

$y=0.0008448x-0.0003042$, $R^2=0.9997$, x 是标准品浓度($\mu\text{mol/L}$), y 是 ΔA 。



注意：本图仅供参考，应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

Note:

咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjls@163.com

网 址：www.jonln.com