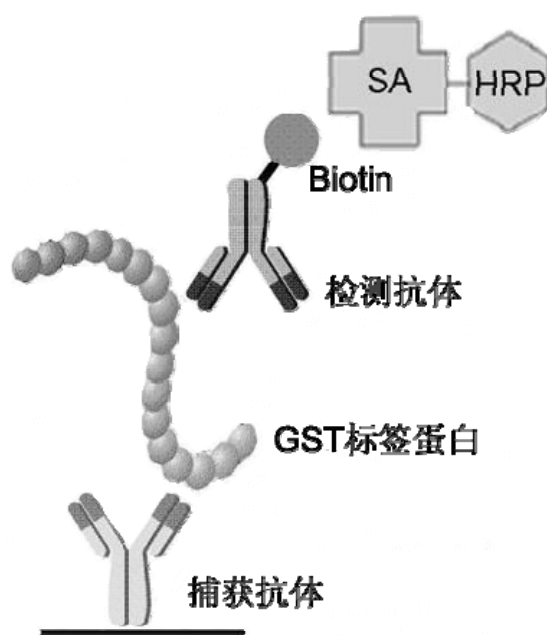


GST 标签 ELISA 检测试剂盒

货号： L00411 版本号： 07202014



1

操作者在使用本产品之前必须仔细阅读操作指南

仅供科研使用，不能用于临床诊断

I. 产品介绍

谷胱甘肽硫转移酶（Glutathione S-transferase, GST）标签是由 GST 基因融合系统形成的，常应用于 GST 标签蛋白的纯化和检测。GST 标签由 220 个氨基酸组成，分子量为 26 kDa。GST 融合蛋白可以在大肠杆菌表达系统中大量表达，并可通过谷胱甘肽树脂一步纯化。在位点特异性蛋白酶（如凝血酶或凝血因子 Xa）作用下，GST 标签可以从融合蛋白上切除。GST 标签抗体是检测 GST 融合蛋白的常用工具。

金斯瑞 GST 标签 ELISA 检测试剂盒可用于检测 GST 标签蛋白，监测和优化蛋白表达。该试剂盒也可用于 GST 标签切除后的残留检测。需要指出的是，不正确的 GST 融合蛋白的折叠可能会影响试剂盒内 GST 抗体和 GST 标签蛋白的结合，进而影响检测结果。

本试剂盒应用双抗体夹心酶联免疫检测（夹心 ELISA）原理来检测样品中 GST 标签蛋白的含量。用抗 GST 标签的单克隆抗体包被微孔板，形成固相抗体，向固相抗体微孔板中加入 GST 标准品和待测样品，同时加入生物素（Biotin）标记的另一抗 GST 标签的单克隆抗体；再加入 HRP 标记链霉亲和素（SA-HRP）形成抗体+抗原+抗体-Biotin+ SA-HRP 复合物，经过洗涤后加入 TMB 底物显色；TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色并在酸的作用下最终转换成黄色。颜色的深浅与样品中的 GST 标签蛋白的量呈正相关。

II. 主要特点

- 灵敏度高：1 ng/ml
- 线性范围宽：3.125-100 ng/ml
- 应用广：可用于 GST 标签蛋白鉴定、蛋白表达优化及快速定量
- 操作简便：提供检测所需要的全部试剂，1 小时内完成检测

III. 试剂盒组成

本试剂盒提供 GST 标签蛋白检测所需的全部试剂，试剂的量足够一块板的检测。

编号	组份	数量
411-80	GST标签蛋白捕获板	1 块 (8 孔 x 12 条)
411-60	样品稀释液	30 ml
411-20	40×生物素标记GST抗体	200 μl
411-90	抗体稀释液	15 ml
411-30	HRP 标记链霉亲和素	12 ml
411-10	GST标签蛋白标准品 (1.0 mg/ml)	10 μl
411-70	20 ×洗液	40 ml
411-40	显色液	12 ml
411-50	终止液	6 ml
N/A	盖板膜	2 张
N/A	产品说明书	1 份

IV. 贮存

本试剂盒未开封状态可于 2-8 °C 条件下稳定保存 12 个月，开封后 2-8 °C 条件下可稳定保存 1 个月，请勿冻存。

V. 所需物品

以下为实验需要但试剂盒未提供的材料和仪器：

检测 450 nm 吸光度的酶标仪

全自动洗板机

去离子水或双蒸馏水

量筒

1000 ml 烧杯

不同规格的 EP 管

不同规格的精密微量移液器、多通道微量移液器及吸头

平板纸

计时器

-20℃冰箱、4℃恒温箱、25℃恒温箱（如果室温达不到 20-25℃，建议放 25℃恒温箱）、37℃恒温箱

离心机

VI. 实验步骤

- 实验开始前，请将所有试剂平衡至室温。

i. 试剂准备

1×洗液

用去离子水或双蒸水按1:20稀释20×洗液。例如：取10 ml的20×洗液加入190 ml的去离子水中配成200 ml洗液，2-8℃条件下保存。

注：如果在20×洗液中出现结晶，在50℃的水浴锅中温浴，直至结晶完全消失。

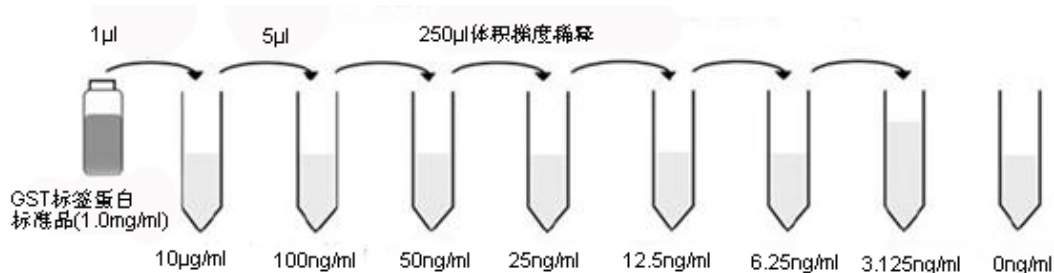
1×生物素标记 GST 抗体

用抗体稀释液按1:40稀释40×生物素标记的GST抗体。例如：取50 μl的生物素标记抗体加入至1950 μl的抗体稀释液中即配成2 ml的1×生物素标记GST抗体，2-8℃条件下保存。

GST 标签蛋白标准品溶液

参照下表稀释步骤配制出标准曲线100 ng/ml、50 ng/ml、25 ng/ml、12.5 ng/ml、6.25 ng/ml、3.125 ng/ml和0 ng/ml。

移取	加入至	配成 GST 标签蛋白浓度
1 μl 的 GST 标准品 (1.0 mg/ml)	99 μl 的样品稀释液，混匀	10 μg/ml
5 μl 的 10 μg/ml 标准品	495 μl 的样品稀释液，混匀	100 ng/ml
250 μl 的 100 ng/ml 标准	250 μl 的样品稀释液，混匀	50 ng/ml
250 μl 的 50 ng/ml 标准	250 μl 的样品稀释液，混匀	25 ng/ml
250 μl 的 25 ng/ml 标准	250 μl 的样品稀释液，混匀	12.5 ng/ml
250 μl 的 12.5 ng/ml 标准	250 μl 的样品稀释液，混匀	6.25 ng/ml
250 μl 的 6.25 ng/ml 标准	250 μl 的样品稀释液，混匀	3.125 ng/ml
250 μl 的样品稀释液	空管	0 ng/ml



ii. 样品准备

在准备样品时需要注意以下几点：

检测样品的pH应为中性，样品中不含有颗粒物，若含有不溶物质可通过离心或过滤去除；

通过预实验来确定样品的最佳检测稀释倍数。例如用样品稀释液按1:5、1:10、1:20和1:40等倍数稀释样品。

标准品和样品稀释设计如下表：

	标准品(ng/ml)		稀释样品									
	重复 1	重复 2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	100	100	1:5	1:5								
B	50	50	1:10	1:10								
C	25	25	1:20	1:20								
D	12.5	12.5	1:40	1:40								
E	6.25	6.25										
F	3.125	3.125										
G	0	0										
H	空白孔											

iii. 捕获板的准备

- 建议检测时标准品和检测样品按复孔操作。
- 计算实验所需的板条数量，将不需要的板条拆卸下来，放回铝箔袋中，封好后 2-8℃ 保存。
- 确定板条紧紧固定在板架上。

iv. 检测过程

- 用盖板膜封板时，手指从板架和板条上滑过以确保板孔完全密封。
- 用计时器计量反应时间。
- 用全自动洗板机或多通道微量移液器洗板。

标准品/待测样品孵育

1. 将配制好的 GST 标准曲线或待测样品各 50 μ l 加入对应板孔中（空白孔除外）。
2. 将稀释后的 1 \times 生物素标记 GST 抗体 50 μ l 加入不同孔中（空白孔除外）。
3. 用盖板膜封板，37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟。
4. 移去盖板膜，弃去板孔中液体。
5. 洗板：移去盖板膜，弃去板孔中液体，每孔加入 1 \times 洗液 260 μ l，浸泡 30 秒，弃去洗液，重复洗涤 4 次。

注：本步骤可以在洗板机上完成。

6. 在平板纸上拍板，彻底去除板孔中的残留液体。

HRP 标记链霉亲和素孵育

7. 每孔加入 HRP 标记链霉亲和素 100 μ l（空白孔除外）。
8. 用盖板膜封板，37 $^{\circ}$ C 孵育 15 分钟。
9. 移去盖板膜，弃去板孔中液体。
10. 洗板，同第 5 步。
11. 在平板纸上拍板，彻底去除板孔中的残留液体。

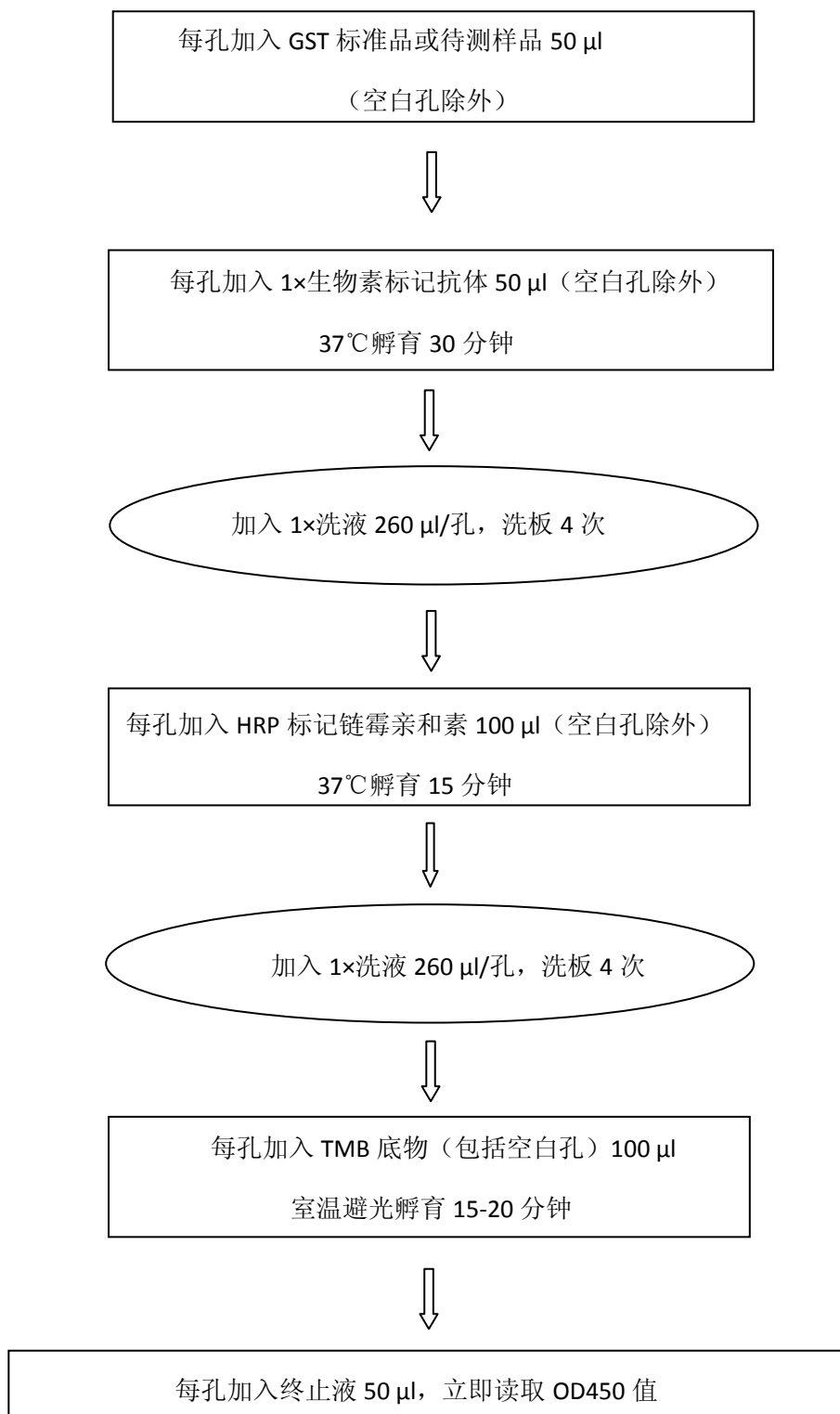
显色反应和吸光值检测

12. 每孔加入显色液 100 μ l（包括空白孔）。
13. 用盖板膜封板，室温（20-25 $^{\circ}$ C）避光反应 15-20 分钟（从加入显色液至第一孔时开始计时）。

注：显色反应时间受温度影响，理想反应温度为 20-25 $^{\circ}$ C，当温度低时，反应时间要适当延长。

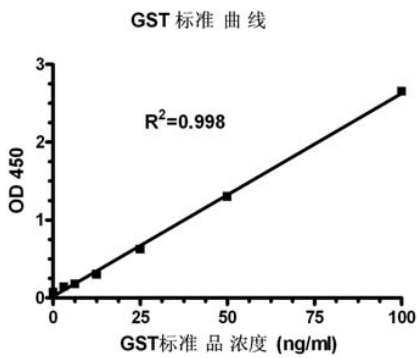
14. 移去盖板膜，每孔加入终止液 50 μ l（包括空白孔）。
15. 终止后立即用酶标仪在 450 nm 处测量吸光值。
16. 以 OD 值为纵坐标，GST 标准蛋白浓度为横坐标，绘制标准曲线。
17. 根据标准曲线计算出样品中 GST 标签蛋白的含量。

VII. 检测流程图



VIII. 参考曲线

以下曲线仅作为示例展示，每一次检测都必须制备标准曲线。



GST 标准 (ng/ml)	GST 标准 (pmol/ml)	OD 450			
		重复 1	重复 2	平均值	校正均值
100	3.846	2.682	2.624	2.653	2.603
50	1.923	1.324	1.280	1.302	1.252
25	0.962	0.624	0.618	0.621	0.571
12.5	0.481	0.310	0.289	0.300	0.250
6.25	0.240	0.177	0.177	0.177	0.127
3.125	0.120	0.136	0.146	0.141	0.091
0	0	0.064	0.067	0.066	0.016
Blank		0.051	0.048	0.050	

IX. 精密度

本试剂盒的批内差小于 5%，批间差小于 10%。

X. 回收率

本试剂盒的回收率范围为 85%-115%。

XI. 常见问题

问题	原因	解决方法
重复性差	遗漏加样品步骤	按说明书重新操作
	加样不准	对移液器进行校正，根据操作指南使用移液器
	板孔内壁被移液器枪头刮伤	在加样和洗板中，避免接触板孔内壁
	样品中存在颗粒物	检测前通过离心去除颗粒物
标准曲线不好	配制标准品溶液有问题	根据说明书重新配制标准品溶液
	洗板不彻底	使用洗板机洗板时，要注意洗液的量是否充足，检测是否有堵孔现象发生
	加样不准	对移液器进行校正，根据操作指南使用移液器
	误用其它试剂盒中的成分	检查实验中使用的试剂，重新操作
	操作时，各个成分没有完全恢复至室温	所有的试剂完全恢复至室温后，重新操作实验
	孵育温度不当	按说明书重新操作
信号弱/没有信号	遗漏加显色液步骤	按说明书重新操作
	遗漏加生物素标记检测抗体步骤或者遗漏加HRP标记链霉亲和素	按说明书重新操作
	误用其它试剂盒中的成分	不同试剂盒组份不能混用，重新操作
	显色液被污染	使用新的显色液
	加入孔中的液体体积有误	按说明书重新操作
	孵育温度或时间有误	按说明书重新操作
	没有立即读板	加入终止液后立即读板
本底过深	洗板不彻底	使用洗板机洗板时，要注意洗液的量是否充足，检测是否有堵孔现象发生
	显色液被污染	使用新的显色液
	孵育过程中的挥发	在孵育过程中，使用盖板膜
	孵育温度或时间有误	按说明书重新操作
	显色液没有避光保存	使用新的显色液

XII. 相关产品

- THE™ GST Antibody, mAb, Mouse A00865
- THE™ GST Antibody [HRP], mAb, Mouse A00866
- THE™ GST Antibody [Biotin], mAb, Mouse A00867
- Protein A ELISA Kit L00430
- One-Component TMB Substrate M00078
- Stop Solution M01017
- 20 × Wash Solution M01016

XIII. 实验记录

运用如下表格记录实验标准曲线以及样品数据

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

实验记录:

南京金斯瑞生物科技有限公司

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号，邮编211100

客服热线：025-58897288-5810

订购邮箱：product@genscript.com.cn

公司主页：<http://www.genscript.com.cn>