

γ -glutamyltranspeptidase Activity Assay Kit

γ -谷氨酰转移酶活性测定试剂盒

货号: BN72827 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、产品简介:

γ -谷氨酰转移酶(γ -glutamyltranspeptidase, γ -GT, EC 2.3.2.2), 又称 γ -谷氨酰转肽酶, 催化谷胱甘肽、S-取代谷胱甘肽和其它 γ -谷氨酰化合物上的 γ -谷氨酰基的转移; 该酶广泛分布于生物体内, 是谷氨酰循环中的关键酶, 在氨基酸转运过程中起重要的作用, 故它是反映生物体代谢的一个重要指标。

γ -GT 催化谷氨酰对硝基苯胺中 γ -谷氨酰基转移给 N-甘氨酸甘氨酸, 生成对硝基苯胺, 通过测定对硝基苯胺在 410nm 光吸收增加速率, 来计算 γ -GT 酶活性大小。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 110mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 mg×1 瓶	-20℃保存	临用前甩几下使粉末全部落入底部, 加入 4.4mL 的试剂一, 混匀溶解备用。
试剂三	粉体 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉末全部落入底部, 加入 4.4mL 的试剂一, 混匀溶解备用。
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、离心机、可调式移液器、研钵、乙醇、冰和蒸馏水。

四、 γ -谷氨酰转移酶(γ -GT):

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 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; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4): 提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长到 410nm。

② 所有试剂解冻至室温(25℃)。依次在 96 孔板中加入:

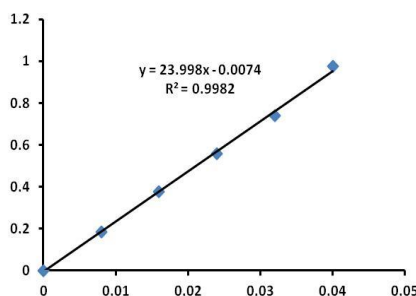
试剂名称(μ L)	测定管
试剂一	80
样本	40
试剂二	40

试剂三	40
混匀后立即于 410nm 处读取 A1 值, 37°C 准确反应 20min 后读取 A2。ΔA=A2-A1。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线：y = 23.998x - 0.0074：x 为标准品(μmol)，y 为ΔA。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本鲜重计算：

单位定义：在 37°C，每克组织每分钟催化产生 1nmol 对硝基苯胺为一个酶活单位（U）。

$$\begin{aligned} \gamma\text{-谷氨酰转移酶}(\gamma\text{-GT}) (\text{nmol/min/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0074) \div 23.998] \times 10^3 \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 52.08 \times (\Delta A + 0.0074) \div W \end{aligned}$$

3、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：在 37°C，每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol 对硝基苯胺为一个酶活单位（U）。

$$\begin{aligned} \gamma\text{-谷氨酰转移酶}(\gamma\text{-GT}) (\text{nmol/min/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0074) \div 23.998] \times 10^3 \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \\ &= 52.08 \times (\Delta A + 0.0074) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

4、按细胞数量计算：

单位定义：在 37°C，每 10⁴ 个细胞每分钟催化产生 1nmol 对硝基苯胺为一个酶活单位（U）。

$$\begin{aligned} \gamma\text{-谷氨酰转移酶}(\gamma\text{-GT}) (\text{nmol/min}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0074) \div 23.998] \times 10^3 \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ &= 0.104 \times (\Delta A + 0.0074) \end{aligned}$$

5、按照液体体积计算：

单位定义：在 37°C，每毫升液体每分钟催化产生 1nmol 对硝基苯胺定义为一个酶活单位（U）。

$$\begin{aligned} \gamma\text{-谷氨酰转移酶}(\gamma\text{-GT}) (\text{nmol/min/mL}) &= [(\Delta A + 0.0074) \div 23.998] \times 10^3 \div V1 \div T \\ &= 52.08 \times (\Delta A + 0.0074) \end{aligned}$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.04mL；

T---反应时间，20min；

W---样本质量，g；

500---细胞数量

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。