

## $\gamma$ -谷氨酰转肽酶 ( $\gamma$ -GT) 检测试剂盒 (比色法)

产品货号: BA1790

产品规格: 48T/96T

### 检测原理:

$\gamma$ -GT是 $\gamma$ -谷氨酰循环中的关键酶,催化GSH降解。 $\gamma$ -GT催化GSH或者其他 $\gamma$ -谷氨酰基化合物上的 $\gamma$ -谷氨酰基转移到受体。也可以催化GSH和其他 $\gamma$ -谷氨酰基化合物的水解,产生谷氨酸盐,在细胞外谷胱甘肽新陈代谢中起了重要的作用。

$\gamma$ -GT催化谷氨酰对硝基苯胺中 $\gamma$ -谷氨酰基转移给N-甘氨酸甘氨酸,生成对硝基苯胺,在405nm有特征光吸收;通过测定405nm光吸收增加速率,来计算 $\gamma$ -GT酶活性。

### 试剂组成:

成份	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂二	液体12.5mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体44.5mL×1瓶	2-8℃
工作液(在试剂一瓶中配制):临用前配制,把试剂二倒入试剂一瓶中,充分溶解(室温过低时可以40℃水浴促进溶解);然后把试剂三倒入试剂一瓶中,混匀后室温保存。		

### 需要而未提供的试剂和器材:

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 样本处理:

- 细菌或培养细胞: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个):提取液体积(mL)为500~1000:1的比例(建议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20%或200W,超声3s,间隔10s,重复30次);10000rpm 4℃离心10min,取上清,置冰上待测。
- 组织:称取约0.1g样品,加提取液1.0 mL充分研磨,于4℃,10000rpm离心15min,取上清液待测。
- 血清(浆):直接检测。

### 操作步骤:

※正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 分光光度计预热30min以上,调节波长至405nm,蒸馏水调零。
- 试剂二置于25℃(一般物种)或者37℃(哺乳动物)水浴中预热30min以上(保证无沉淀)。
- 按顺序加入下列试剂,完成测定。

试剂( $\mu$ L)	测定管	空白管
样本	100	-
蒸馏水	-	100
工作液	900	900
混匀后于405nm测定10s时的吸光度,记为A1。吹打混匀后测量130s时的吸光		



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话:400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

度, 记为A2。 计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测2}} - A_{\text{测1}}$ ,  $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空2}} - A_{\text{空1}}$ , 计算  $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。

### 活性计算:

#### 1. $\gamma$ -GT活性计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算:

活性单位 (U) 定义: 25°C 或者 37°C 中, 每毫克蛋白每分钟催化产生 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.506 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算:

活性单位 (U) 定义: 25°C 或者 37°C 中, 每克组织每分钟催化产生 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.506 \times \Delta A \div W$$

(3) 按血清(浆)计算:

活性单位 (U) 定义: 25°C 或者 37°C 中, 每毫升血清每分钟催化产生 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.506 \times \Delta A$$

(4) 按细菌或培养细胞计算:

单位的定义: 每1万个细菌或细胞每分钟催化产生 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT (U/10^4\text{cell})} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 0.001 \times \Delta A$$

V样: 加入样品体积, 0.1mL; V提取: 加入提取液体积: 1mL; T: 反应时间, 2min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 500万细胞;  $\epsilon$ : 对硝基苯胺消光系数, 9870L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V反总: 反应体系总体积, 0.001L;  $10^6$ : 单位换算系数, 1mol=10<sup>6</sup>  $\mu\text{mol}$

### 注意事项:

1. 培养细胞中  $\gamma$ -GT活性测定时, 细胞中  $\gamma$ -GT的提取时可加试剂一后研磨或超声波处理, 不能用细胞裂解液处理细胞 (防止因为蛋白质变性导致酶失活)。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com