

γ-谷氨酰转肽酶 (γ-GT) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1034

产品规格: 100管/96样

产品说明:

γ-GT是γ-谷氨酰循环中的关键酶,催化GSH降解。γ-GT催化GSH或者其他γ-谷氨酰基化合物上的γ-谷氨酰基转移到受体。也可以催化GSH和其他γ-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。

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,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γ-GT酶活性。

注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	粉剂×1瓶	4℃
试剂二	液体4.9mL×1瓶	4℃
试剂三	液体18.4mL×1瓶	4℃

溶液的配制:

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。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理(可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

1. 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(10^4 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。
2. 组织: 称取约0.1g样本,加提取液1.0mL充分研磨,于4℃, 10000rpm离心15min,取上清液待测。
3. 血清(浆): 直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上,调节波长至405nm,蒸馏水调零。
2. 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)。
3. 样本测定:

试剂(μL)	空白管	测定管
蒸馏水	20	-



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

上清液/血清	-	20
工作液	180	180

混匀后于405nm测定10s时的吸光度，吹打混匀后测量130s时的吸光度，记为A1和A2。计算 ΔA 测定管=A测2-A测1， ΔA 空白管=A空2-A空1，计算 $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管。

三、 γ -GT活性计算

A、按96孔板计算：

1. 按样本蛋白浓度计算：

活性单位定义：25℃或者37℃中，每毫克蛋白每分钟催化产生1 μ mol对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.845 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算：

活性单位定义：25℃或者37℃中，每克组织每分钟催化产生1 μ mol对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.845 \times \Delta A \div W$$

3. 按血清（浆）体积计算：

活性单位定义：25℃或者37℃中，每毫升血清每分钟催化产生1 μ mol对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.845 \times \Delta A$$

4. 按细菌或细胞数量计算：

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

$$\gamma\text{-GT (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 1.69 \times 10^{-3} \times \Delta A$$

V样：加入样本体积，0.02mL；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：细菌或细胞数量，500万细胞； ϵ ：对硝基苯胺消光系数，9870L/mol/cm；d：96孔板光径，0.6cm；V反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； 10^6 ：单位换算系数，1mol=10⁶ μ mol。

B、按微量玻璃比色皿计算：

将上述计算公式中的d=0.6 cm改为d=1cm（比色皿光径）。

注意事项：

培养细胞中 γ -GT活性测定时，细胞中 γ -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

QQ: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com