

## $\gamma$ -谷氨酰转移酶（GGT/ $\gamma$ -GT）活性比色测定试剂盒

产品货号：BA1791

产品规格：48T/96T

### 用途：

本试剂盒适用于检测血清、血浆等液体样本及动物组织样本中的 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶(GGT/ $\gamma$ -GT)的活性。

### 检测范围及灵敏度：

检测范围：0.88-399.4U/L

灵敏度：0.88U/L

### 背景介绍：

$\gamma$ -谷氨酰转氨酶( $\gamma$ -GT)广泛存在于人体各器官中，是 $\gamma$ 谷氨酰循环中的关键酶，催化GSH降解，具有参与调节组织中谷胱甘肽水平，氨基酸的吸收与排泄，以及肽链中自由氨基酸的酰化等作用。正常人血清 $\gamma$ -GT的活力很低。在急性肝炎、肝癌和梗阻性黄疸等患者中，其血清 $\gamma$ -GT活力显著升高，因而 $\gamma$ -GT活力的测定，对于肝胆系统疾病的诊断有一定意义，与其他酶活力测定等配合，有助于肝癌的诊断。

### 检测原理：

$\gamma$ -谷氨酰转氨酶( $\gamma$ -GT)催化 $\gamma$ -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波长处吸光度的增加速率，来计算 $\gamma$ -GT酶活性。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司BCA试剂盒进行测定。

### 提供试剂和物品：

试剂名称	48T	96T	保存条件
试剂一：缓冲液	15ml×1瓶	30ml×1瓶	2-8℃
试剂二：底物	粉剂×1支	粉剂×2支	2-8℃，避光
试剂三：提取液	50ml×1瓶	50ml×2瓶	2-8℃
试剂四：1.0mmol/L对硝基苯胺标准品	1.5ml×1支	1.5ml×1支	2-8℃
试剂五：稀释液	10ml×1瓶	10ml×1瓶	2-8℃

### 所需自备物品：

酶标仪（405nm）、96孔酶标板、96孔覆膜

### 实验关键点：

- ①加样时需准确操作，37℃恒温箱中孵育时间需要严格控制，孵育后及时测定。
- ②对硝基苯胺的标准曲线只需要测定一次即可。
- ③低值样本建议延长A<sub>2</sub>反应时间至15min。

### 试剂准备：

- ①所有试剂平衡至室温后方可使用，试剂四和试剂五可提前放至37℃恒温箱中预热20min，以保证其完全融化。
- ②试剂二应用液的配制：



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

取一支试剂二粉剂，用3mL的试剂五溶解，临用前配制，2-8℃条件下可保存一个月。

### ③反应工作液的配制：

将试剂一和试剂二应用液按照41的比例混匀，现配现用。

### 样本准备：

#### ①样本处理：

血清等液体样本：直接测定；

组织样本：匀浆介质为试剂三。

#### ②样本的稀释：

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围(0.88-3994U/L)请参考下表稀释：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
小鼠血清	不稀释	猪血清	不稀释
人血清	不稀释	人胸水	不稀释
大鼠血清	不稀释	10%小鼠肝组织	不稀释
狗血清	不稀释	10%小鼠心组织	不稀释
人血浆	不稀释	10%大鼠脾组织	不稀释
马血清	不稀释	10%大鼠肺组织	不稀释

注：稀释液为试剂三。

### 操作过程：

检测环境室内温度 25~30℃，最佳检测波长 405nm，最终反应体积 275μL。

### 微量移液器的注意事项：

①移液器取试剂前，请用该试剂平衡枪头（缓慢吸液，反复吹打 3 次）。

②不能将枪头外壁上的液体加入到反应体系。

### 酶标板设置：

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A	A	S1	S9	S17	S25	S33	S41	S49	S57	S65	S73
B	B	B	S2	S10	S18	S26	S34	S42	S50	S58	S66	S74
C	C	C	S3	S11	S19	S27	S35	S43	S51	S59	S67	S75
D	D	D	S4	S12	S20	S28	S36	S44	S52	S60	S68	S76
E	E	E	S5	S13	S21	S29	S37	S45	S53	S61	S69	S77
F	F	F	S6	S14	S22	S30	S38	S46	S54	S62	S70	S78
G	G	G	S7	S15	S23	S31	S39	S47	S55	S63	S71	S79
H	H	H	S8	S16	S24	S32	S40	S48	S56	S64	S72	S80

注：A-H：标准孔，S1-S80：测定孔。

### 对硝基苯胺标曲浓度稀释表：

编号	标准品浓度 (μmol/L)	1.0mmol/L 对硝基苯胺 标准品体积 (μL)	试剂五体积 (μL)
----	----------------	-------------------------------	------------



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

A	0	0	200
B	200	40	160
C	400	80	120
D	500	100	100
E	600	120	80
F	800	160	40
G	900	180	20
H	1000	200	0

标准品浓度 (μmol/L)：加入到反应体系之前的标准品浓度。

#### 标准工作液的配制：

标准品按稀释表稀释后，再将试剂一与不同浓度的标准品溶液按 4:1 的比例混匀，现配现用。

#### 操作步骤：

- ①标准孔中加入 25μL 的双蒸水；
- ②测定孔中加入 25μL 的待测样本上清液；
- ③向步骤①标准孔中加入 250μL 不同浓度的标准品工作液；
- ④向步骤②测定孔中加入 250μL 反应工作液；
- ⑤酶标仪振板 10s 混匀，37℃恒温箱中准确孵育 1min；
- ⑥波长 405nm 处测定 OD 值，记为 A<sub>1</sub>，再放入 37℃恒温箱中准确孵育 5min，波长 405nm 处测定 OD 值记为 A<sub>2</sub>， $\Delta A_{\text{测定孔}} = A_2 - A_1$  (注：标准孔不要求差值，直接取 5min 测定的 OD 值做标准曲线即可；低值样本建议延长 A<sub>2</sub> 反应时间至 15min。)

#### 操作表：

	测定孔	标准孔
样本 (μL)	25	-
双蒸水 (μL)	-	25
反应工作液 (μL)	250	-
不同浓度的标准品工作液 (μL)	-	250
酶标仪振板 10s 混匀后，37 恒温箱中准确孵育 1min，然后于波长 405nm 处测定 OD 值，记为 A <sub>1</sub> ，再放入 37℃恒温箱中准确孵育 5min，波长 405nm 处测定 OD 值记为 A <sub>2</sub> ， $\Delta A_{\text{测定孔}} = A_2 - A_0$ (注：标准孔不要求差值，直接取 5min 测定的 OD 值做标准曲线即可；低值样本建议延长 A <sub>2</sub> 反应时间至 15min。)		

#### 结果计算：

标准品拟合曲线：y=ax+b

组织γ-谷氨酰转肽酶(γ-GT)活性：

活性单位定义：37℃条件下，每克蛋白每分钟催化产生 1μmol 对硝基苯胺的酶量为 1 个活性单位。

γ-GT 酶活(U/gprot)=( $\Delta A_{\text{测定孔}} - b$ )÷a×V<sub>1</sub>÷V÷C<sub>pr</sub>×T×f

=0.4×( $\Delta A_{\text{测定孔}} - b$ )÷a÷C<sub>pr</sub>×f

血清血浆等液体样本γ-谷氨酰转肽酶(γ-GT)活性：

活性单位定义：37℃条件下，每升液体样本每分钟催化产生 1μmol 对硝基苯胺的酶量为 1 个活性单位。

γ-GT 酶活(U/L)=( $\Delta A_{\text{测定孔}} - b$ )÷a×V<sub>1</sub>÷V<sub>2</sub>×T×f



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

$$=0.4 \times (\Delta A_{\text{测定孔}} - b) \div a \times f$$

注:

Y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(对硝基苯胺标准品浓度为 0 的 OD 值)

X: 吸光度对应的对硝基苯胺浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

$\Delta A_{\text{测定孔}}$ : 波长 405nm 处测定孔在两个时间点内的 OD 值的变化( $\Delta A_{\text{测定孔}} = A_2 - A_1$ )

V: 加入反应体系试剂二应用液体积,  $50\mu\text{L} = 50 \times 10^{-5}\text{L}$ (反应工作液加样量为 250uL 由试剂一与试剂二应用液按照 4:1 配制)

$C_{\text{pr}}$ : 样本加入检测体系前蛋白浓度(g/L)

V: 加入上清液体积,  $25\mu\text{L} = 25 \times 10^{-5}\text{L}$

T: 反应时间, 5min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数



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