γ-谷氨酰转移酶(γ-glutamyltranspeptidase)活性测定试剂盒

（货号：G0434F 分光法 48 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-甘氨酰甘氨酸，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、测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 40mL×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瓶底，加入 8.8mL 的试剂一，混匀溶解备用。
试剂三	粉体 mg×1 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉末全部落入瓶底，加入 8.8mL 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：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿（光径1cm）、水浴锅、台式离心机、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（水分充足的样本可取 0.5g），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 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 410nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温（25℃）。

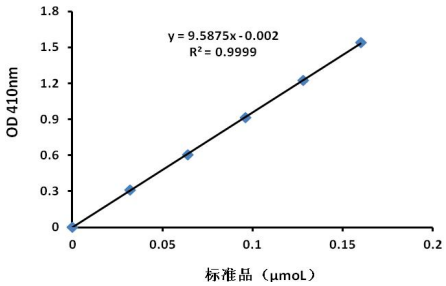
③ 在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
试剂一	320
样本	160
试剂二	160
试剂三	160
混匀后立即于 410nm 处读取 A1 值，37℃准确反应 20min 后读取 A2。△A=A2-A1。	

【注】1. 若ΔA 小于 0.005，可增大样本量 V1（如增至 320μL，试剂一相应减少），则改变后的 V1 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线：y=9.5875x - 0.002：x 为标准品(μmoL)，y 为ΔA。



2、按样本鲜重计算：

单位定义：在 37℃，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）。

γ-谷氨酰转移酶(γ-GT) (nmoL/min/g 鲜重)=[(ΔA+0.002)÷9.5875] ×10^3÷(W×V1÷V)÷T

=32.6×(ΔA+0.002)÷W

3、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：在 37℃，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）。

γ-谷氨酰转移酶(γ-GT) (nmoL/min/mg prot)=[(ΔA+0.002)÷9.5875] ×10^3÷(V1×Cpr)÷T

=32.6×(ΔA+0.002)÷Cpr

4、按细胞数量计算：

酶活定义：在 37℃，每 10^4 个细胞每分钟催化产生 1nmoL 对硝基苯胺为一个酶活单位（U）。

γ-谷氨酰转移酶(γ-GT) (nmoL/min/10^4 cell)=[(ΔA+0.002)÷9.5875] ×10^3÷(500×V1÷V)÷T

=0.07×(ΔA+0.002)

5、按照液体体积计算：

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

γ-谷氨酰转移酶(γ-GT) (nmoL/min/mL)= [(ΔA+0.002)÷9.5875] ×10^3÷V1÷T=32.6×(ΔA+0.002)

V---加入提取液体积，1 mL；　　V1---加入样本体积，0.16mL；

T---反应时间，20min；　　W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；

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。

附：标准曲线制作过程：

1 制备标准品母液（50μmol/mL）：临用前甩几下或离心，使粉体落入底部，加入 0.5mL 乙醇，涡旋震荡溶解后再加入 0.5mL 的蒸馏水混匀，得到 50μmol/mL 备用。

2 用蒸馏水把母液稀释成以下浓度：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1μmol/mL。也可根据实际来调整浓度。

3 160μL 标准品+640μL 试剂一，混匀后于 410nm 处读取 A 值，依据结果即可制作标准曲线。