



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)活性检测试剂盒(可见分光光度法)

货号: R41768

规格: 50T

产品组成及保存条件:

名称	规格	储存条件
R41768-A	50mL×1瓶	4℃保存
R41768-B	粉剂×1瓶	4℃保存
R41768-C	12.5ml×1瓶	4℃保存
R41768-D	44.5mL×1瓶	4℃保存
工作液(在R41768-B瓶中配制):临用前配制, 把R41768-C倒入R41768-B瓶中, 充分溶解(室温过低时可以40℃水浴促进溶解);然后把R41768-D倒入R41768-B瓶中, 混匀后室温保存。		

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介

意义: γ -谷氨酰转肽酶 (γ -glutamyl transpeptidase, 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。

原理: 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, 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。

自备用品:

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调节移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水

粗酶液提取:



1. 组织: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL R41768-A 进行冰浴匀浆; 8000g, 4℃离心 15min, 取上清, 置冰上待测。
2. 细菌或细胞: 500 万细胞加入 1mL R41768-A, 冰浴超声波破碎细胞 (功率300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 8000g, 4℃, 离心 15min, 取上清置于冰上待测。
3. 血清等液体: 直接测定。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 405 nm, 蒸馏水调零。
2. R41768-B 置于 25℃ (一般物种) 或者 37℃ (哺乳动物) 水浴中预热 30min (保证无沉淀)。
3. 取 1mL 玻璃比色皿, 依次加入:

试剂名称	测定管(ul)	空白管(ul)
粗酶上清液	100	
蒸馏水		100
工作液	900	900
混匀后于405nm测定10s和130s时吸光度, 记为A1和A2, 计算 ΔA 测定管=A测2-测A1, ΔA 空白管=A空2-A空1, 计算 $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管		

注意: 空白管只需测定一次。

γ -GT 活性计算公式:

(1) 按蛋白浓度计算

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 1 个酶活单位。

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

(2) 按样本质量计算

活性单位定义: 25℃或者 37℃中, 每克样本每分钟催化产生 1 μ mol 对硝基苯胺为 1 个酶活单位。

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

(3) 按细胞数量计算



活性单位定义: 25°C或者 37°C中, 每 10^4 个细胞每分钟催化产生 $1\mu\text{mol}$ 对硝基苯胺为 1 个酶活单位。

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

(4) 按液体体积计算

活性单位定义: 25°C或者 37°C中, 每毫升液体每分钟催化产生 $1\mu\text{mol}$ 对硝基苯胺为 1 个酶活单位。

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

注: $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL; $V_{\text{提取}}$: 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: 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.001L; 10^6 : 单位换算系数, $1\text{mol}=10^6\mu\text{mol}$ 。

注意事项:

1. 培养细胞中 γ -GT 活性测定时, 细胞数目须在 300 万-500 万之间, 细胞中 γ -GT 的提取时可加 R41768-A 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)。
2. 配制好的工作液 2 周内使用完毕。

源叶