



γ -谷氨酰转移酶 (γ -GT)/ γ -谷氨酰转肽酶活性试剂盒

可见分光光度法

货号: R43917-48S

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。

试剂盒组成和配制:

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底部, 加入8.8mL的试剂一, 混匀溶解备用。
试剂三	粉体mg×1支	4℃保存	临用前甩几下使粉末全部落入底部, 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。

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。

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, 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。

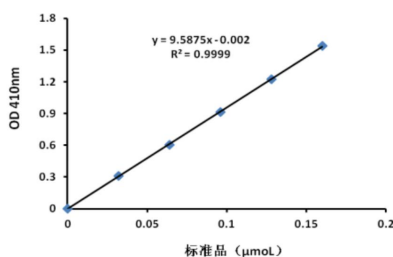
②所有试剂解冻至室温(25℃)。

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。	

结果计算:

1、标准曲线: $y=9.5875x-0.002$; x为标准品(μmol),y为△A。





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)

$$=[(\Delta A+0.002)\div 9.5875]\times 10^3\div (W\times V_1\div V)\div T$$

$$=32.6\times (\Delta A+0.002)\div W$$

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)

$$=[(\Delta A+0.002)\div 9.5875]\times 10^3\div (V_1\times C_{pr})\div T$$

$$=32.6\times (\Delta A+0.002)\div C_{pr}$$

4、按细胞数量计算:

酶活定义: 在37℃,每10⁴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/10⁴cell)

$$=[(\Delta A+0.002)\div 9.5875]\times 10^3\div (500\times V_1\div V)\div T$$

$$=0.07\times (\Delta A+0.002)$$

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)=[($\Delta A+0.002$) $\div 9.5875$] $\times 10^3\div V_1\div T$

$$=32.6\times (\Delta A+0.002)$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V₁---加入样本体积, 0.16mL;

T-- 反应时间, 20min;



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

W---样本质量, g;

50---细胞数量, 万;

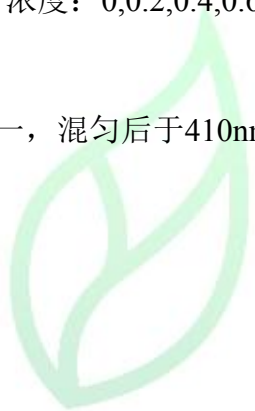
Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL, 建议使用本公司的BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附: 标准曲线制作过程:

1.制备标准品母液(50 μ mol/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50 μ mol/mL 备用。

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

3. 160 μ L 标准品+640 μ L 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。



源叶