

γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 检测试剂盒 (比色法)

产品货号: BA1790

产品规格: 48T/96T

检测原理:

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。

试剂组成:

成份	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂二	液体12.5mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体44.5mL×1瓶	2-8℃
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。		

需要而未提供的试剂和器材:

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

样本处理:

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

操作步骤:

※正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 分光光度计预热30min以上,调节波长至405nm,蒸馏水调零。
- 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)。
- 按顺序加入下列试剂,完成测定。

试剂(μ L)	测定管	空白管
样本	100	-
蒸馏水	-	100
工作液	900	900



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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

活性计算：

1. γ -GT活性计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算：

活性单位(U)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。

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

(2) 按样本质量计算：

活性单位(U)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。

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

(3) 按血清(浆)计算：

活性单位(U)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。

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

(4) 按细菌或培养细胞计算：

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。

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

V样：加入样品体积，0.1mL；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；500：500万细胞； ϵ ：对硝基苯胺消光系数，9870L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V反总：反应体系总体积，0.001L； 10^6 ：单位换算系数，1mol=10⁶ μ mol

注意事项：

1. 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

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com