

## γ-谷氨酰转移酶（GGT/γ-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γ-谷氨酰转氨酶(GGT/γ-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：**

γ-谷氨酰转氨酶(γ-GT)广泛存在于人体各器官中，是γ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γ-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γ-GT活力显著升高，因而γ-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：**

γ-谷氨酰转氨酶(γ-GT)催化γ-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波长处吸光度的增加速率，来计算γ-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。

**产品组成：**

| 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：  
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：



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

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。

#### 对硝基苯胺标准浓度稀释表：

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



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

### 操作步骤:

1. 标准孔中加入 25 $\mu$ L 的双蒸水;
2. 测定孔中加入 25 $\mu$ L 的待测样本上清液;
3. 向步骤 1 标准孔中加入 250 $\mu$ L 不同浓度的标准品工作液;
4. 向步骤 2 测定孔中加入 250 $\mu$ L 反应工作液;
5. 酶标仪振板 10s 混匀, 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中准确孵育 1min;
6. 波长 405nm 处测定 OD 值, 记为  $A_1$ , 再放入 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中准确孵育 5min, 波长 405nm 处测定 OD 值记为  $A_2$ ,  $\Delta A$  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  $A_2$  反应时间至 15min。)

### 操作表:

|                                                                                                                                                                                                                                 | 测定孔 | 标准孔 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 样本 ( $\mu$ L)                                                                                                                                                                                                                   | 25  | -   |
| 双蒸水 ( $\mu$ L)                                                                                                                                                                                                                  | -   | 25  |
| 反应工作液 ( $\mu$ L)                                                                                                                                                                                                                | 250 | -   |
| 不同浓度的标准品工作液 ( $\mu$ L)                                                                                                                                                                                                          | -   | 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 $A_1$ , 再放入 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中准确孵育 5min, 波长 405nm 处测定 OD 值记为 $A_2$ , $\Delta A$ 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 $A_2$ 反应时间至 15min。) |     |     |

### 结果计算:

1. 标准品拟合曲线:  $y=ax+b$
2. 组织 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶( $\gamma$ -GT)活性:  
活性单位定义: 37 $^{\circ}$ C 条件下, 每克蛋白每分钟催化产生 1 $\mu$ mol 对硝基苯胺的酶量为 1 个活性单位。  
 $\gamma$ -GT 酶活(U/gprot)=( $\Delta A$  测定孔-b) $\div a \times V_1 \div V \div C_{pr} \div T \times f$   
 $=0.4 \times (\Delta A$  测定孔-b) $\div a \div C_{pr} \times f$
3. 血清血浆等液体样本 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶( $\gamma$ -GT)活性:  
活性单位定义: 37 $^{\circ}$ C 条件下, 每升液体样本每分钟催化产生 1 $\mu$ mol 对硝基苯胺的酶量为 1 个活性单位。

$$\gamma\text{-GT 酶活(U/L)}=(\Delta A_{\text{测定孔}}-b)\div a \times V_1 \div V_2 \div T \times f$$

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

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;  $\Delta A$  测定孔: 波长 405nm 处测定孔在两个时间点内的 OD 值的变化( $\Delta A$  测定孔= $A_2-A_1$ );  $V_1$ : 加入反应体系试剂二应用液体积, 50 $\mu$ L=50 $\times 10^{-5}$ L(反应工作液加样量为 250 $\mu$ L 由试剂一与试剂二应用液按照 4:1 配制);  $C_{pr}$ : 样本加入检测体系前蛋白浓度(g/L);  $V_2$ : 加入上清液体积, 25 $\mu$ L=25 $\times 10^{-5}$ 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

**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