

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A₂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7天。
3. 反应工作液的配制：
将试剂一和试剂二应用液按照4:1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 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 μ L 的双蒸水;
2. 测定孔中加入 25 μ L 的待测样本上清液;
3. 向步骤 1 标准孔中加入 250 μ L 不同浓度的标准品工作液;
4. 向步骤 2 测定孔中加入 250 μ 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 , ΔA 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 (μ L)	25	-
双蒸水 (μ L)	-	25
反应工作液 (μ L)	250	-
不同浓度的标准品工作液 (μ 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 , ΔA 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 γ -谷氨酰转肽酶(γ -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 μ mol 对硝基苯胺的酶量为 1 个活性单位。
 γ -GT 酶活(U/gprot)=(ΔA 测定孔-b) $\div a \times V_1 \div V_2 \div C_{pr} \div T \times f$
 $=0.4 \times (\Delta A$ 测定孔-b) $\div a \div C_{pr} \times f$
3. 血清血浆等液体样本 γ -谷氨酰转肽酶(γ -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 μ 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;

ΔA 测定孔: 波长 405nm 处测定孔在两个时间点内的 OD 值的变化(ΔA 测定孔= A_2-A_1);

V_1 : 加入反应体系试剂二应用液体积, 50 μ L= 50×10^{-5} L(反应工作液加样量为 250 μ 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 μ L= 25×10^{-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