



γ-谷氨酰转肽酶 (γ-GT) 活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号: BC1220

规格: 50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	粉剂×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 12 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 45 mL×1 瓶	2-8°C保存

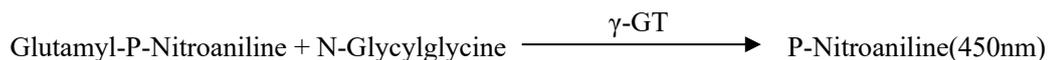
溶液的配制：

- 1、试剂一工作液（在试剂一瓶中配制）：临用前配制，把 10mL 试剂二倒入试剂一瓶中，充分溶解（室温过低时可以 40°C水浴促进溶解）。2-8°C可以保存 4 周
- 2、工作液的配制：临用前根据样本量按试剂一工作液：试剂三=960μL：3.54mL（共 4.5mL，约 6T）的比例进行配制，限当天用完。

产品说明：

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。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照组织质量（g）:提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，4°C，10000rpm 离心 15min，取上清置冰上待测（如上清不清澈可以离心更长时间）。

2. 细菌或细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细胞数量 10^4 个：提取液体积 (mL) 为 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）然后于 4°C ，10000rpm 离心 15min，取上清置冰上待测（如上清不清澈可以离心更长时间）。
3. 血清（浆）等液体：直接测定。若液体浑浊可离心后待测

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热30min以上，调节波长至405nm，蒸馏水调零。
- 2、工作液置于 37°C 水浴中预热20min以上（保证无沉淀）。
- 3、样本测定：（在比色皿中加入下列试剂）

加入试剂 (μL)	空白管	测定管
蒸馏水	100	-
上清液/血清（浆）	-	100
工作液	900	900

将上述试剂分别加入比色皿后迅速吹打混匀，记录第 10s 的吸光值 A1 测定（A1 空白），迅速置于 37°C 水浴或培养箱 2min，拿出迅速擦干测定 2min10s 时的吸光值 A2 测定（A2 空白），计算 $\Delta A = (A2 \text{ 测定} - A1 \text{ 测定}) - (A2 \text{ 空白} - A1 \text{ 空白})$ ，空白管只需做 1-2 次。

三、 γ -GT 活性计算

- 1、按样本蛋白浓度计算：

活性单位定义：在 37°C 条件下，每毫克蛋白每分钟催化产生 $1\mu\text{mol}$ 对硝基苯胺为一个活性单位。

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

- 2、按样本质量计算：

活性单位定义：在 37°C 条件下，每克组织每分钟催化产生 $1\mu\text{mol}$ 对硝基苯胺为一个活性单位。

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

- 3、按血清（浆）体积计算：

活性单位定义：在 37°C 条件下，每毫升血清每分钟催化产生 $1\mu\text{mol}$ 对硝基苯胺为一个活性单位。

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

- 4、按细菌或细胞数量计算：

单位的定义：在 37°C 条件下，每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 $1\mu\text{mol}$ 对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \times V_{\text{反总}} \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 0.506 \times \Delta A \div N$$

V 样：加入样本体积，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；N：细菌或细胞数量，以万计； 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， $1\text{mol} = 10^6\mu\text{mol}$ 。

注意事项：

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）。

实验实例：

1、取 0.1g 肾脏加入 1mL 提取液进行匀浆研磨，于 4°C，10000rpm 离心 15min，取上清液稀释 20 倍按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A = (A2 \text{ 测定} - A1 \text{ 测定}) - (A2 \text{ 空白} - A1 \text{ 空白}) = (1.412 - 0.68) - (0.597 - 0.578) = 0.713$ ，按样本质量计算酶活得：

$$\gamma\text{-GT (U/g 质量)} = 0.506 \times \Delta A \div W \times 20 \text{ (稀释倍数)} = 72.16 \text{ U/g 质量。}$$

相关系列产品：

- BC1170/BC1175 还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量检测试剂盒
- BC1180/BC1185 氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 含量检测试剂盒
- BC1190/BC1195 谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 活性检测试剂盒
- BC0350/BC0355 谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 活性检测试剂盒
- BC1160/BC1165 谷胱甘肽还原酶 (GR) 性检测试剂盒
- BC1150/BC1155 硫氧还蛋白氧化还原酶 (TrxR) 活性检测试剂盒
- BC1210/BC1215 γ -谷氨酰半胱氨酸连接酶 (GCL) 活性检测试剂盒