

γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1029

保存: 4°C 保存 6 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 血清(浆)、动植物组织、细胞、细菌

产品简介

γ -谷氨酰转肽酶(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。本试剂盒提供了一种简单的检测方法,用于检测生物样本,如血清(浆)、动植物组织、细胞、细菌样本中 γ -GT的活性。原理是 γ -GT催化谷氨酰对硝基苯胺中 γ -谷氨酰基转移到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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4°C 保存
试剂一	1	1	4°C 保存
试剂二	2mL	4mL	4°C 保存
试剂三	7.4mL	14.8mL	4°C 保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计(能测405nm处的吸光度)及水浴锅

96孔板或微量玻璃比色皿、低温离心机、制冰机

可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器(如果是组织样本)

试剂准备

提取液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

工作液: 临用前配制; 将试剂二加入试剂一充分溶解(室温过低时可以40°C水浴促进溶解); 然后将试剂三加入试剂一瓶中; 4°C 保存。

样本制备

组织样本: 称取约0.1g组织, 加入1mL提取液, 进行冰浴匀浆, 8,000g, 4°C离心15min, 取上清, 置冰上待测。

细胞、细菌: 收集500万细菌或细胞加入1mL提取液, 冰浴超声波破碎细胞3min(功率20%或200W, 超声3s, 间隔7s); 然后8,000g, 4°C, 离心15min, 取上清, 置于冰上待测。

血清(浆)等液体: 直接测定。

注意: 1. 推荐使用新鲜样本, 如果不立即进行实验, 样本可在-80°C保存1个月。样品处理等过程均需要在冰上进行, 且须在当日测定酶活力, 以免影响其活力。如果是匀浆液, 避免反复冻融。

产品说明书

2. 细胞中 γ -GT 活性测定时，细胞数目须在 300 万-500 万之间，细胞中 γ -GT 的提取时可加提取液后超声波处理，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）。
3. 如需要进行样本蛋白质浓度测定时，推荐用 BCA 法蛋白质定量试剂盒。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 405nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 工作液置于 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）。
3. 样本测定：在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入 20 μ L 样本，180 μ L 工作液，迅速混匀后于 405nm 处测定 10s 和 70s 时的吸光度，记为 A_1 ， A_2 计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。

注意：1. 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 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量；如果 ΔA 大于 0.5 样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

2. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）。
3. 因通过反应速率计算酶活，使用 96 孔 UV 板时请根据操作速度控制一次测定的样本数（通常一次测定 4-8 个样本）。

结果计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 按蛋白浓度计算

活性单位 (U) 定义：25℃ 或 37℃ 中，每毫克蛋白每分钟催化产生 1nmol 对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 2026 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算：

活性单位 (U) 定义：25℃ 或 37℃ 中，每克组织每分钟催化产生 1nmol 对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 2026 \times \Delta A \div W$$

3. 按血清（浆）计算：

活性单位 (U) 定义：25℃ 或 37℃ 中，每毫升血清每分钟催化产生 1nmol 对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 2026 \times \Delta A$$

4. 按细菌或培养细胞计算：

单位的定义：25℃ 或 37℃ 中，每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol 对硝基苯胺为一个活性单位。

$$\gamma\text{-GT (U/10}^4 \text{ cells)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 4.053 \times \Delta A$$

$V_{\text{样}}$ ：加入样品体积，0.02 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L；T：反应时间，1 min；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，9870 L/mol/cm；d：比色皿光径，0.5 cm； 10^9 ：单位换算系数，1 mol= 10^9 nmol。

B. 使用微量玻璃比色皿进行测定的计算公式

将上述计算公式中光径 d：0.5 cm 调整为 d：1 cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1022 谷胱甘肽还原酶 (GR) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1023 还原型谷胱甘肽 (GSH) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1024 氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1027 谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

