

CheKine™ γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1690

规格: 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清 (浆)
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT, EC 2.3.2.2) 是一种广泛存在于生物体内的膜结合糖蛋白, 属于转移酶家族。它是 γ -谷氨酰循环中的关键酶, 催化谷胱甘肽 (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 GSH 新陈代谢中起了重要的作用。

本试剂盒检测原理是 γ -GT 催化谷氨酰对硝基苯胺中的 γ -谷氨酰基转移给 N-甘氨酸甘氨酸, 生成黄色产物对硝基苯胺, 在 405 nm 有特征吸收光; 通过测定 405 nm 光吸收增加速率, 来计算 γ -GT 酶活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格 (96 T)	储存要求
Extraction Buffer	120 mL	4℃
Reagent I	Powder×1 vial	4℃
Reagent II	5 mL	4℃
Reagent III	18.5 mL	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 405 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS (pH 7.4)、去离子水	标准品及样本稀释用
其他	匀浆器 (组织样本)、恒温箱、制冰机、低温离心机、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 **2-3** 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
工作液	临用前配制；将 Reagent II 加入 Reagent I 充分溶解（室温过低时可以 40℃ 水浴促进溶解）；然后将 Reagent III 加入 Reagent I 瓶中；用不完的试剂 4℃ 避光保存可稳定 1 个月。	实验过程中避光放置；4℃ 避光保存；有一定毒性，注意防护。

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在 **-80℃** 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。细胞中 **γ-GT** 活性测定时，细胞数目须在 **3-5×10⁶** 之间，细胞中 **γ-GT** 在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）。

- **动植物组织**：称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8000 g，4℃ 离心 15 min，取上清液于新离心管中，置冰上待检测。
- **细胞或细菌**：收集 5×10⁶ 个细胞或细菌，用冷的 PBS 清洗细胞，800 g 离心 2 min 后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 8000 g，4℃ 离心 15 min，取上清液，置冰上待测。
- **血清或血浆**：直接检测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 405 nm。
2. **工作液预热**：工作液置于 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）水浴中预热 10 min 以上（保证无沉淀）。

3. 检测体系配制：按如下体系在酶标板中进行检测体系配制。空白孔一般只做 1 次。

试剂	空白孔 (μL)	测定孔 (μL)
样本	0	20
去离子水	20	0
工作液	180	180

4. 吸光度检测：充分混匀，在 405 nm 处读取 10 s 和 70 s 时吸光度值，空白管记为 $A_{1\text{ 空白}}$ ， $A_{2\text{ 空白}}$ ，测定管记为 $A_{1\text{ 测定}}$ ， $A_{2\text{ 测定}}$ 。如检测血清样本，建议延长反应时间至 12 min。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-1 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{2\text{ 测定}} - A_{1\text{ 测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A_{2\text{ 空白}} - A_{1\text{ 空白}}$

2. 使用 96 孔板测定的计算公式

● 按样本质量计算

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

$\gamma\text{-GT (U/g 鲜重)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 2.026 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W$

● 按细胞或细菌数量计算：

活性单位 (U) 定义：25℃或 37℃中，每 10⁴个细胞或细菌每分钟催化产生 1 μmol 对硝基苯胺为一个活性单位。

$\gamma\text{-GT (U/10}^4\text{)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 4.053 \times 10^{-3} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}})$

● 按液体体积计算

活性单位 (U) 定义：25℃或 37℃中，每毫升液体样本每分钟催化产生 1 μmol 对硝基苯胺为一个活性单位。

$\gamma\text{-GT (U/mL)} = (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6 \div V_{\text{样}} \div T = 2.026 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}})$

● 按蛋白浓度数量计算

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

$\gamma\text{-GT (U/ mg prot)} = [(\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 2.026 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div Cpr$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，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：细胞数量，以 10⁴为单位；ε：对硝基苯胺消光系数，9870 L/mol/cm；d：比色皿光径，0.5 cm；10⁶：单位换算系数，1 mol=10⁶ μmol。

07 结果展示

示例-1: 取 0.1 g 浸泡绿豆, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}}$
 $= (A4-A3)-(A2-A1) = (1.543-1.506)-(0.650-0.654) = 0.0413$ 。按样本质量计算得: $\gamma\text{-GT (U/g 鲜重)} = \left[\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^6 \right] \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 2.026 \times \Delta A_{\text{测定}} \div W = 2.026 \times 0.0413 \div 0.1 = 0.837 \text{ U/g 鲜重}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办?

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 0.5$, 则说明样本中 $\gamma\text{-GT}$ 活性太高, 需用 Extraction Buffer 适当稀释, 重新进行测定。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.02$, 可提高样本量或延长反应时间, 再重新进行测定。

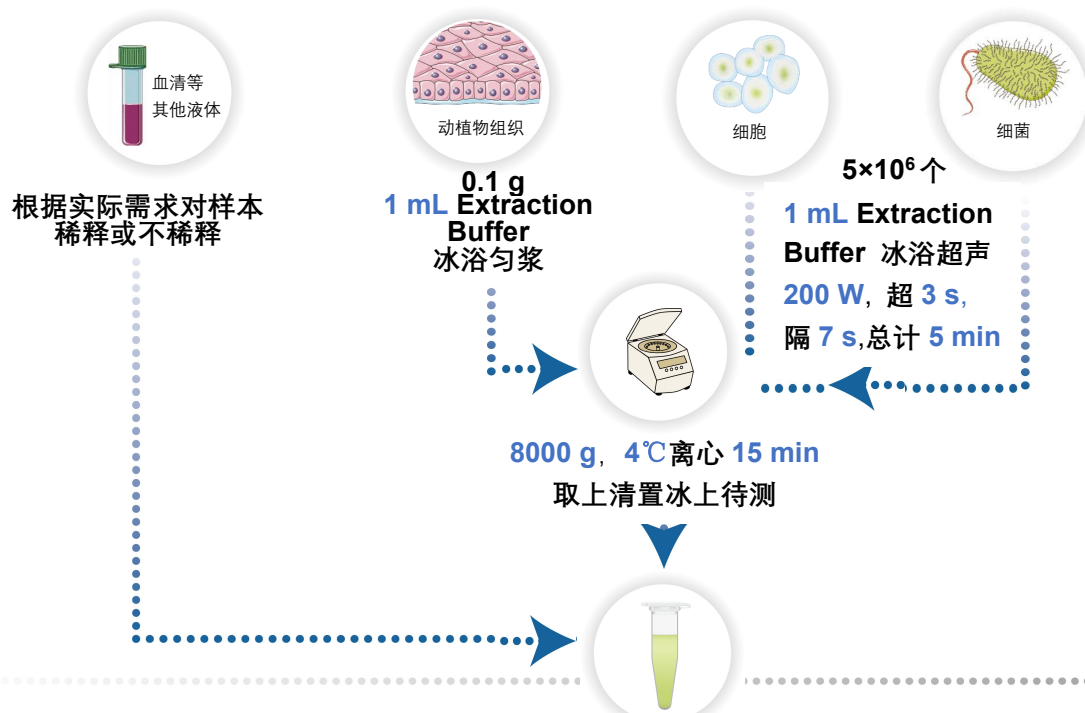
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1610	CheKine™ 氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 含量检测试剂盒 (微量法)
KTB1620	CheKine™ 谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1630	CheKine™ 谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1600	CheKine™ 还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量检测试剂盒 (微量法)
KTB1100	CheKine™ 乳酸含量检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 活性检测流程示意图

(Abbkin 货号: KTB1690)

样本处理



体系配置

工作液: 将 Reagent II 加入
Reagent I 充分溶解 (室温
过低时可以 40℃ 水浴促进
溶解); 然后将 Reagent III
加入 Reagent I 瓶中

测定孔
样本 20 μ L
工作液 180 μ L

空白孔
去离子水 20 μ L
工作液 180 μ L

数据检测

测定 405 nm 处 10 s 和 70s 吸光度
结果计算