

## $\gamma$ -谷氨酰转移酶（GGT/ $\gamma$ -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 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶(GGT/ $\gamma$ -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：

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

$\gamma$ -谷氨酰转氨酶( $\gamma$ -GT)催化 $\gamma$ -谷氨酰对硝基苯胺中 $\gamma$ -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 $\gamma$ -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。

### 提供试剂和物品：

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℃
96孔酶标板	1板		
96孔覆膜	2张		
样本位置标记表	1张		

### 所需自备物品：

仪器：酶标仪（405nm）

### 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。



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

#### 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:  
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		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。



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

### 对硝基苯胺标准曲线浓度稀释表：

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。

### 操作步骤：

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

### 操作表：

	测定孔	标准孔
样本 (μL)	25	-
双蒸水 (μL)	-	25
反应工作液 (μL)	250	-
不同浓度的标准品工作液 (μL)	-	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 <sub>1</sub> ，再放入 37℃恒温箱中准确孵育 5min，波长 405nm 处测定 OD 值记为 A <sub>2</sub> ， $\Delta A_{\text{测定孔}} = A_2 - A_0$ (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 <sub>2</sub> 反应时间至 15min。)		

### 结果计算：

标准品拟合曲线：y=ax+b

组织γ-谷氨酰转肽酶(γ-GT)活性：

活性单位定义：37℃条件下，每克蛋白每分钟催化产生 1μmol 对硝基苯胺的酶量为 1 个活性单位。

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



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

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

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℃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。

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

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

注:

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

$\Delta A_{\text{测定孔}}$ : 波长 405nm 处测定孔在两个时间点内的 OD 值的变化( $\Delta A_{\text{测定孔}} = A_2 - A_1$ )

V: 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)

$C_{\text{pr}}$ : 样本加入检测体系前蛋白浓度(g/L)

V: 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>