

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K126-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(405 nm)

Elabscience[®] γ -谷氨酰转肽酶 (GGT/ γ -GT)

比色法测试盒

γ -Glutamyl Transferase (GGT/ γ -GT)

Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

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 -谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 的活性。

检测原理

γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 催化 γ -谷氨酰对硝基苯胺中 γ -谷氨酰基转移给 N-甘氨酸甘氨酸, 生成对硝基苯胺, 在 405 nm 有特征光吸收, 通过测定 405 nm 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 (货号 E-BC-K318-M) 进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48T)	规格 2 (Size 2)(96T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	15 mL×1 瓶	30 mL×1 瓶	2-8 °C 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8 °C 避光 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	提取液 (Extracting Solution)	50 ml×1 瓶	50 mL×2 瓶	2-8 °C 保存 3 个月
试剂四 (Reagent 4)	1.0 mmol/L 对硝基苯 胺标准品 (1.0 mmol/L p-Nitroaniline Standard Solution)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×1 支	2-8 °C 保存 3 个月
试剂五 (Reagent 5)	稀释液 (Standard Diluent)	10 mL×1 瓶	10 mL×1 瓶	2-8 °C 保存 3 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(405 nm)

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20 min，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3 mL的试剂五溶解，临用前配制，2-8℃条件下可分装保存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。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度($\mu\text{mol/L}$)	0	200	400	500	600	800	900	1000
1.0 mmol/L 标准品(μL)	0	40	80	100	120	160	180	200
试剂五(μL)	200	160	120	100	80	40	20	0

标准品工作液的配制：

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。

样本准备

① 样本处理

血清(浆)样本：直接测定，若样本较浑浊，需要先离心，取上清进行测定。

组织样本：匀浆液为试剂三，4℃ 10000 ×g，离心 10 min 取上清待测，匀浆后的上清一部分用于蛋白测定。

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：0.88-399.4 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

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。

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。

操作步骤

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

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 10 s 混匀后，37°C 恒温箱中准确孵育 1 min，然后于波长 405 nm 处测定 OD 值，记为 A_1 ，再放入 37°C 恒温箱中准确孵育 5 min，波长 405 nm 处测定 OD 值记为 A_2 ， $\Delta A_{\text{测定孔}} = A_2 - A_1$ 。（注：标准孔不要求差值，直接取 5 min 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 15 min。）		

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(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

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:

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

$$\begin{aligned}\gamma\text{-GT 酶活} &= (\Delta A_{\text{测定孔}} - b) \div a \times V_1 \div V_2 \div C_{\text{pr}} \div T \times f \\ (\text{U/gprot}) & \\ &= 0.4 \times (\Delta A_{\text{测定孔}} - b) \div a \div C_{\text{pr}} \times f\end{aligned}$$

血清血浆等液体样本 γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 活性:

定义: 37°C条件下, 每升液体样本每分钟催化产生 1 μmol 对硝基苯胺的酶量为 1 个活性单位。

$$\begin{aligned}\gamma\text{-GT 酶活} &= (\Delta A_{\text{测定孔}} - b) \div a \times V_1 \div V_2 \div T \times f \\ (\text{U/L}) & \\ &= 0.4 \times (\Delta A_{\text{测定孔}} - b) \div a \times f\end{aligned}$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

$\Delta A_{\text{测定孔}}$: 波长 405 nm 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_1 : 加入反应体系试剂二应用液体积, $50 \mu\text{L} = 5.0 \times 10^{-5} \text{L}$ (反应工作液加样量为 $250 \mu\text{L}$, 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, $25 \mu\text{L} = 2.5 \times 10^{-5} \text{L}$

T: 反应时间, 5 min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

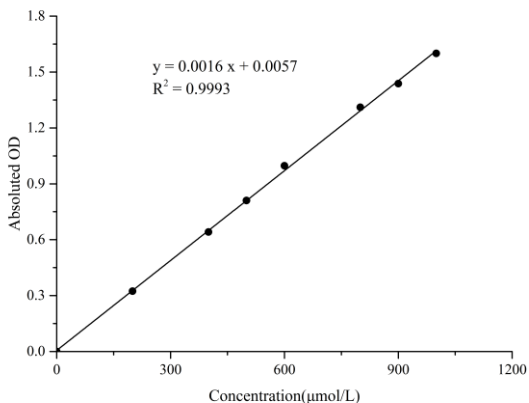
检测范围	0.88-399.4 U/L	平均批间差	6.2 %
灵敏度	0.88 U/L	平均批内差	4.2 %

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度的对硝基苯胺标准品与试剂一按照1: 4的比例混合, 制备成标准品工作液, 按照操作步骤进行实验, 读取各点OD值如下表所示:

标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	0	200	400	500	600	800	900	1000
OD 值	0.042	0.364	0.656	0.844	1.051	1.355	1.485	1.678
	0.042	0.367	0.710	0.862	1.027	1.351	1.474	1.606
平均 OD 值	0.042	0.366	0.683	0.853	1.039	1.353	1.480	1.642
绝对 OD 值	0.000	0.324	0.641	0.811	0.997	1.311	1.438	1.600

②制标准曲线, 如下图所示:



附录2 实例分析

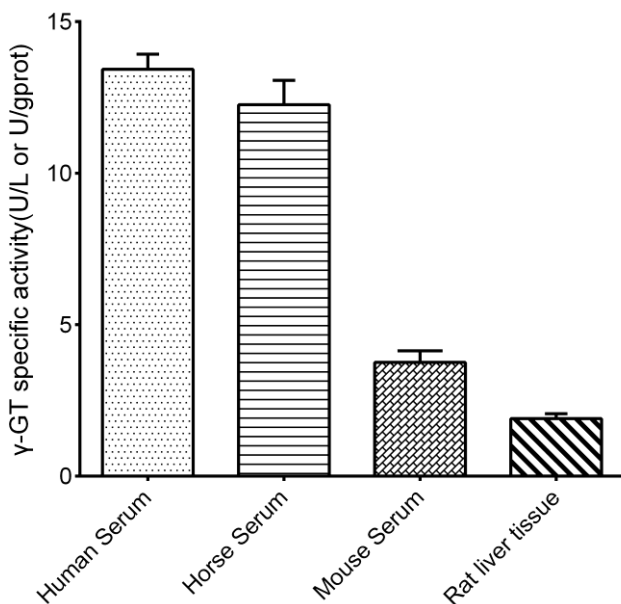
例如检测人血清样本(数据仅供参考):

取25 μL 人血清,按操作表检测,结果如下:

对硝基苯胺标准曲线为 $y = 0.0016x + 0.0057$, 孵育1 min时的平均OD值 A_1 为1.111, 再孵育5 min后的平均OD值 A_2 为1.159, 则 $\Delta A_{\text{测定孔}} = A_2 - A_1 = 0.048$, 计算结果为:

$$\gamma\text{-GT 酶活(U/L)} = 0.4 \times (0.048 - 0.0057) \div 0.0016 = 10.575 \text{ U/L}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量25 μL)、马血清(加样量25 μL)、小鼠血清(加样量25 μL)、大鼠肝组织(10%组织匀浆的蛋白浓度5.36 g/L, 加样量25 μL)中 $\gamma\text{-GT}$ 酶活(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测定吸光度值过大	未能第一时间进行检测	孵育结束后及时测定
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Zhang X, He C, Chen Y, et al. Cyclic reactions-mediated self-supply of H₂O₂ and O₂ for cooperative chemodynamic/starvation cancer therapy[J]. *Biomaterials*, 2021, 275:120987-. IF:12.479
2. Xia H, Scholtes C, Dufour CR, et al. Insulin action and resistance are dependent on a GSK3 β -FBXW7-ERR α transcriptional axis. *Nat Commun.* 2022; 13 (1):2105. IF:14.919
3. Liu Q, Zhang T X, Zheng Y D, et al. Calixarene-Embedded Nanoparticles for Interference-Free Gene-Drug Combination Cancer Therapy[J]. *Small*, 2021, 2006223. IF:11.459
4. He C, Zhang X, Chen C, et al. A solid lipid coated calcium peroxide nanocarrier enables combined cancer chemo/chemodynamic therapy with O₂/H₂O₂ self-sufficiency[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 122. IF:8.203
5. Chen L, Tao F, Zhang Y, et al. Islet-cell autoantigen 69 accelerates liver regeneration by downregulating Tgfb1 and attenuating Tgf β signaling in mice[J]. *FEBS Letters*, 2020, 594(17). IF:6.665
6. Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2021:2001133. IF:5.914
7. Wang C, Ma C, Fu K, et al. Phillygenin Attenuates Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis via Modulating Inflammation and Gut Microbiota[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 9, 21. IF:5.81
8. Du Y Q, Zheng Y Z, Yu C X M, et al. The Mechanisms of Yu Ping Feng San in Tracking the Cisplatin-Resistance by Regulating ATP-Binding Cassette Transporter and Glutathione S-Transferase in Lung Cancer Cells[J].*Frontiers in Pharmacology*, 2021; 12: 678126. IF:5.81
9. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. *Pharmacological Research*, 2019, 147, 104357. IF:5.574
10. Cao X, Liang Y, Liu R, et al. Uncovering the Pharmacological Mechanisms of Gexia-Zhuyu Formula (GXZY) in Treating Liver Cirrhosis by an Integrative Pharmacology Strategy. *Front Pharmacol.* 2022; 13:793888. IF:5.331
11. Wang Y, Xie W, Feng Y, et al. Epithelial-derived exosomes promote M2 macrophage polarization via Notch2/SOCS1 during mechanical ventilation. *Int J Mol Med.* 2022; 50 (1). IF:5.314

12. Jung D S, Son Y J, Shin J M, et al. Gymnaster Koraiensis Extract Alleviated Metabolic Syndrome Symptoms and Stimulated UCP1-Independent Energy Consumption via AMPK Activation in White Adipose Tissue[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2020. IF:5.309
13. Ali A K, Komal A K, Almutairi S M, et al. Natural killer cell-derived IL-10 prevents liver damage during sustained murine cytomegalovirus infection[J]. *Frontiers in immunology*, 2019, 10: 2688. IF:5.085
14. Xu Y , Zhang Y , Xu Y , et al. Activation of CD137 signaling promotes macrophage apoptosis dependent on p38 MAPK pathway-mediated mitochondrial fission[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2021 Jul;136:106003. IF:5.085
15. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. *Life Sciences* 266 (2021) 118876. IF:5.037
16. Ahmed A E, Alshehri A, Al-Kahtani M A, et al. Vitamin E and selenium administration synergistically mitigates ivermectin and doramectin-induced testicular dysfunction in male Wistar albino rats[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 124: 109841. IF:4.545
17. Su S, Tian H, Jia X, et al. Mechanistic insights into the effects of SREBP1c on hepatic stellate cell and liver fibrosis[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
18. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
19. Dejan Lazić, Andreas Scheurer, Dušan Ćoćić, et al. New bis-pyrazolylpyridine ruthenium(III) complex as a potential anticancer drug: In vitro and in vivo activity in murine colon cancer[J]. *Dalton Transactions*, 2021 Jun; 50(22):7686-7704. IF:4.39
20. Li X, Lv Z, Chen J, et al. *Bacillus amyloliquefaciens* B10 can alleviate liver apoptosis and oxidative stress induced by aflatoxin B1[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2021, 151:112124. IF:4.06
21. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al. Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. *Gene*, 2020, 768(7):145288. IF:3.688

