

(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	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	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°C 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°C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 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 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 15min。）		

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

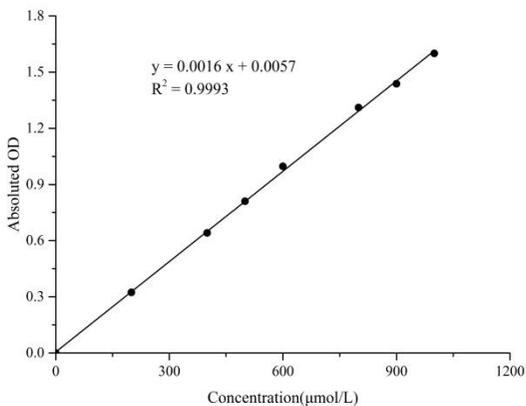
检测范围	0.88-399.4 U/L	平均批间差	6.2 %
灵敏度	0.88 U/L	平均批内差	4.2 %

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

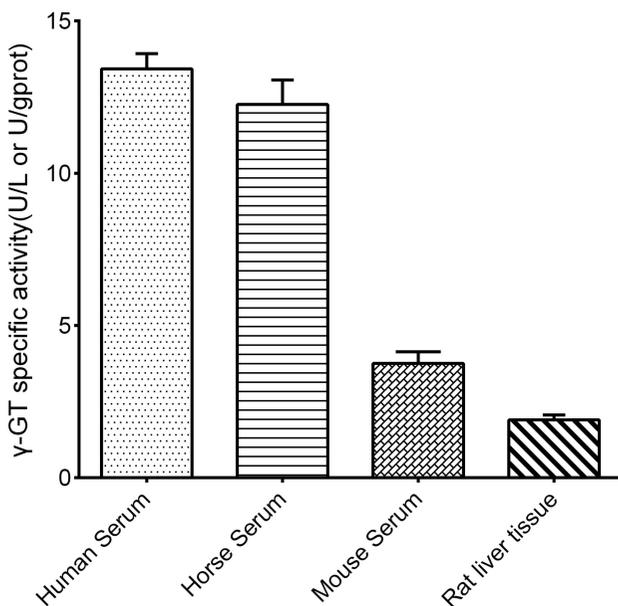
例如检测人血清样本(数据仅供参考):

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. Yuan J , Ding L , Han L ,et al.Thermal/ultrasound-triggered release of liposomes loaded with Ganoderma applanatum polysaccharide from microbubbles for enhanced tumour ablation[J].Journal of Controlled Release, 2023, 363(000):17.DOI:10.1016/j.jconrel.2023.09.030.
2. Guo H , Li Y , Wang S ,et al.Dysfunction of astrocytic glycopagy exacerbates reperfusion injury in ischemic stroke[J].Redox Biology, 2024, 74.DOI:10.1016/j.redox.2024.103234.
3. Guo H , Li Y , Wang S ,et al.Dysfunction of astrocytic glycopagy exacerbates reperfusion injury in ischemic stroke[J].Redox Biology, 2024, 74.DOI:10.1016/j.redox.2024.103234.
4. Hassan H M , Safadi M E , Hayat M F ,et al.Prevention of fenitrothion induced hepatic toxicity by saponarin via modulating TLR4/MYD88, JAK1/STAT3 and NF- κ B signaling pathways[J].International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 2025, 179.DOI:10.1016/j.biocel.2024.106716.
5. Liu B , Zhang J , Yao S J .San-Huang-Chai-Zhu Formula Ameliorates Liver Injury in Intrahepatic Cholestasis through Suppressing SIRT1/PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Oxidative Stress[J].Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM, 2022, 2022(Pt.22):ArticleID7832540-ArticleID7832540.DOI:10.1155/2022/7832540.

