（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-K840-M

产品规格：96T(40 samples)

检测仪器：酶标仪(520-530 nm)

Elabscience®转谷氨酰胺酶（TGs）比色法测试盒

Transglutaminases (TGs) Activity Colorimetric 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样本中的转谷氨酰胺酶(TGs)的活力。

检测原理

转谷氨酰胺酶(Transglutaminases, TGs)可以催化谷氨酰胺残基与赖氨酸残基或伯胺之间的酰基转移。TGs 介导的蛋白质交联对多种生物过程和疾病至关重要。TGs 也作为食品加工助剂被广泛应用于肉类、鱼类、乳制品和谷物产品。

本试剂盒的检测原理是：TGs 催化谷氨酰胺残基与伯胺之间的酰基转移，生成物与显色剂形成显色物质，通过测定 525 nm 处的吸光度变化来测定样本中 TGs 的活力。

本试剂盒检测样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（E-BC-K318-M）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	30 mL×1 瓶	-20ºC 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 A (Substrate A)	粉剂×1 瓶	-20ºC 避光保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 B (Substrate B)	1.2 mL×1 支	-20ºC 避光保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 A （Chromogenic Agent A）	4 mL×1 瓶	-20°C 避光保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	终止剂 （Stop Solution）	4 mL×1 瓶	-20°C 避光保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	显色剂 B （Chromogenic Agent B）	16 mL×1 瓶	-20°C 避光保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	标准品 (Standard)	粉剂×1 支	-20°C 避光保存 6 个月
	96 孔酶标板	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(520-530 nm，最佳检测波长 525 nm)，恒温箱。

试剂：生理盐水(0.9% NaCl)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25°C)。

② 试剂二工作液的配制：

取一瓶试剂二，加入3 mL的试剂一，混匀，避光待用，未用完的试剂二工作液可分装-20°C避光保存20天。

③ 测定工作液的配制：

将试剂一：试剂二工作液：试剂三按体积比=8：1：1混合均匀，按需配制，当天使用有效。

④ 对照工作液的配制：

将试剂一：试剂二工作液按体积比=9：1混合均匀，按需配制，当天使用有效。

⑤ 显色工作液的配制：

将试剂四：试剂五：试剂六按体积比=1：1：4混合均匀，按需配制，现配现用，4 h内使用有效。

⑥ 25 mmol/L标准品的配制：

取一支试剂七，加入0.8 mL的试剂一，混匀，避光待用，现配现用，4 h内使用有效。

⑦ 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(mmol/L)	**0**	**5**	**7.5**	**10**	**12.5**	**15**	**17.5**	**25**
25 mmol/L 标准品(μL)	0	40	60	80	100	120	140	200
试剂一(μL)	200	160	140	120	100	80	60	0

实验关键点

进行操作步骤③⑤时，保证离心使管壁上的液体滑落至管底，减少操作误差。

操作步骤

① 标准管：取 60 μL 不同浓度标准品溶液加入至 1.5 mL 的 EP 管中。
测定管：取 60 μL 待测样本加入至 1.5 mL 的 EP 管中。
对照管：取 60 μL 待测样本加入至 1.5 mL 的 EP 管中。

② 向步骤①中的标准管、测定管加入 200 μL 测定工作液，对照管加入 200 μL 对照工作液。

③ 500 × g 离心 3 min，37°C 避光孵育 1 h。

④ 向步骤③中各管加入 200 μL 显色工作液。

⑤ 500 × g 离心 3 min，37°C 避光孵育 10 min。12000 × g 离心 10 min。

⑥ 取各管上清液 200 μL 于相应酶标板孔内，酶标仪于 525 nm 检测各孔的 OD 值。

操作表

	标准管	**测定管**	**对照管**
不同浓度的标准品溶液(μL)	60	--	--
待测样本(μL)	--	60	60
测定工作液(μL)	200	200	--
对照工作液(μL)	--	--	200
500 × g 离心 3 min，37° C 避光孵育 1 h。			
显色工作液	200	200	200
500 × g 离心 3 min，37°C 避光孵育 10 min。12000 × g 离心 10 min。			
取各管上清液 200 μL 于相应酶标板孔内，酶标仪于 525 nm 检测各孔的 OD 值。			

本试剂盒检测样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

标准品拟合曲线：y = ax + b

样本中转谷氨酰胺酶(TGs)酶活计算公式：

定义：37°C 条件下，每克蛋白在每升反应体系中每小时产生 1 mmol 羟肟酸盐所需要的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{TGs 酶活 (U/gprot)} = (\Delta A_{525} - b) \div a \div C_{pr} \times f \div T$$

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

ΔA_{525}：测定孔 OD 值-对照孔 OD 值

C_{pr}：样本的蛋白浓度，gprot/L

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

T：孵育反应时间，1 h

附录 1 关键数据

1. 技术参数

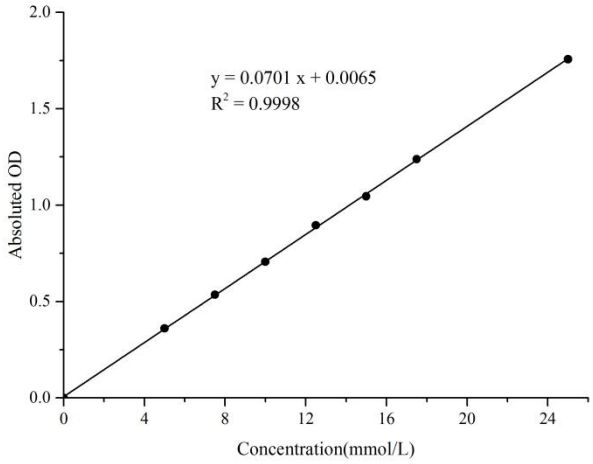
检测范围	3.0-25.0 U/L	批间差	5.0-6.1%
灵敏度	3.0 U/L	批内差	2.0-2.9%
稀释回收率	100-105%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量60 μL，按照操作步骤进行实验，OD值如下表所示：

标准品浓度 (mmol/L)	0	5	7.5	10	12.5	15	17.5	25
OD 值	0.065	0.413	0.604	0.749	0.961	1.122	1.314	1.769
	0.065	0.438	0.598	0.793	0.960	1.099	1.294	1.876
平均 OD 值	0.065	0.426	0.601	0.771	0.961	1.111	1.304	1.822
绝对 OD 值	0	0.361	0.536	0.706	0.896	1.046	1.239	1.757

② 绘制标曲(如下图)：



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同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。