

# 谷丙转氨酶（GPT/ALT）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：BC1550

规格：50T/24S

**产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	粉剂×2 支	2-8°C保存
试剂二	液体 8 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 80 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准液	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：同时提供两个 8 mL 棕瓶；临用前取一支试剂一倒入一个空瓶中，用 4 mL 蒸馏水溶解，再用溶液将试剂一残留试剂润洗下来；
- 2、标准液：20 μmol/mL 丙酮酸钠溶液。

## 产品说明：

谷丙转氨酶又叫丙氨酸氨基转移酶（EC 2.6.1.2），广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，催化氨基酸和酮酸转氨基反应，在氨基酸代谢中具有重要作用。此外，哺乳动物肝细胞GPT活性很高，当肝细胞坏死，GPT释放到血液中，血清GPT活性显著增高。因此，GPT被世界卫生组织推荐为肝功能损害最敏感的检测指标。

GPT催化丙氨酸和 $\alpha$ -酮戊二酸发生转氨基反应，生成丙酮酸和谷氨酸；加入2,4-二硝基苯肼溶液，不仅终止上述反应，而且与酮酸中的羰基加成，生成丙酮酸苯腙；苯腙在碱性条件下呈红棕色，可以在505nm读取吸光值并计算酶活力。

**注意：**实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

## 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

## 操作步骤：

### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1、细胞或细菌样本的制备：先收集细胞或微生物样本到离心管内，弃上清，按照每 500 万细胞或细菌加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率 20%，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）。3500g，4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

2、组织：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆。3500g，4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

3、血清（浆）样本：直接检测。

### 二、测定步骤

1、分光光度计预热30min以上，调节波长至505nm，蒸馏水调零。

2、标准曲线的稀释：首先将标准品用蒸馏水稀释至2μmol/mL，按下表混合标准品和试剂一得到浓度梯度标准管：

标准品 (μL)	试剂一 (μL)	标准管浓度 (μmol/mL)
60	60	1
48	72	0.8
36	84	0.6
24	96	0.4
12	108	0.2
6	114	0.1
3	117	0.05
0	120	0

### 3、在 EP 管中加入下列试剂

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
待测样本	20		
试剂一	100	100	
标准液			120

混匀后, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 反应 30min

试剂二	100	100	100
待测样本		20	

混匀后, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 准确水浴 20min

试剂三	1000	1000	1000
-----	------	------	------

混匀, 室温放置 10min, 在 505nm 波长处, 测各管吸光度。

**注: 0μmol/mL 标准管为空白管。**

### 三、GPT 活性计算

#### 1. 标准曲线的绘制:

以各标准溶液浓度为 x 轴, 以  $\Delta A$  (A 标准管 - A 空白管) 为 y 轴做标准曲线, 得到方程  $y = kx + b$ 。将 (A 测定管 - A 对照管) 带入方程求 x 值 (μmol/mL)。

#### 2. GPT 活性计算:

##### (1) 按样本质量计算:

单位定义: 每小时每 g 样本催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

$$\text{GPT (U/g 质量)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 12x \div W$$

##### (2) 按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每小时每 mg 组织蛋白催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

$$\text{GPT (U/mg prot)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 12x \div C_{\text{pr}}$$

##### (3) 按血清体积计算:

单位定义: 每小时每 mL 血清样本催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

$$\text{GPT (U/mL)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div V_{\text{样本}} \div T = 12x$$

##### (4) 按细胞或细菌数量计算:

单位定义: 每小时每  $10^4$  个细胞或细菌催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

$$\text{GPT (U/10}^4 \text{ cell)} = x \times (\text{V样本} + \text{V试剂一}) \div (500 \times \text{V样本} \div \text{V样总}) \div \text{T} = 0.024x$$

V样本: 样本体积, 0.02mL; V试剂一: 试剂一体积, 0.1mL; V样总: 提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g;  
Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; T: 反应时间, 0.5h; 500: 细胞或细菌总数, 500万。

#### 实验实例:

1、取 0.1g 兔子肝脏组织加入 1mL 提取液进行匀浆研磨, 取上清后再按照测定步骤操作, 测得 A 测定管=1.181, A 对照管=0.458, 计算 $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管} = 1.181 - 0.458 = 0.723$ , 带入标准曲线  $y = 0.5286x + 0.0362$ , 计算  $x = (0.723 - 0.0362) \div 0.5286 = 1.299$ , 按样本质量计算酶活得:

$$\text{GPT (U/g 质量)} = 12x \div W = 12 \times 1.299 \div 0.1 = 155.88 \text{ U/g 质量。}$$

2、取兔血清直接检测, 测得 A 测定管=0.514, A 对照管=0.383, 计算 $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管} = 0.514 - 0.383 = 0.131$ , 带入标准曲线  $y = 0.5286x + 0.0362$ ,  $x = (0.131 - 0.0362) \div 0.5286 = 0.179$ , 按血清(浆)体积计算酶活得:

$$\text{GPT (U/mL)} = 12x = 12 \times 0.179 = 2.148 \text{ U/mL。}$$

#### 相关发表文献:

[1] Yong Li, Fengjun Cao, Mingxing Li, et al. Hydroxychloroquine induced lung cancer suppression by enhancing chemo-sensitization and promoting the transition of M2-TAMs to M1-like macrophages. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. October 2018; (IF5.646)

[2] Poopal R K, Zhang J, Zhao R, et al. Biochemical and behavior effects induced by diheptyl phthalate (DHpP) and Diisodecyl phthalate (DIDP) exposed to zebrafish[J]. Chemosphere, 2020: 126498.

#### 参考文献:

[1] 赵维信, 魏华贾. 镉对罗氏沼虾组织转氨酶活性及组织结构的影响[D]., 1995.

[2] Ohgami N, Upadhyay S, Kabata A, et al. Determination of the activities of glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase in a microfluidic system[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2007, 22(7): 1330-1336.

#### 相关系列产品:

BC0180/BC0185 半胱氨酸 (Cys) 含量检测试剂盒

BC1580/BC1585 谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒

BC0250/BC0255 羟脯氨酸 (HYP) 含量检测试剂盒

