

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0651

Size: 50T/24S

谷丙转氨酶（GPT）检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

GPT（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。

二、测定原理：

GPT 催化丙氨酸和 α -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。

三、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、1 mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×2 瓶	4℃保存	同时提供两个 8mL 棕瓶；临用前取一支试剂一倒入一个空瓶中，用 4mL 蒸馏水溶解，再用溶液将试剂一残留试剂润洗下来；
试剂二	液体 8 mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 80mL×1 瓶	4℃保存	

标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	20μmol/mL 丙酮酸钠标准品
-----	------------	------	-------------------

五、操作步骤：

● 样品测定的准备

1、细胞或微生物样品的制备：

先收集细胞或微生物样品到离心管内，弃上清，按照每 500 万细胞或微生物加入 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℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2、组织：

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液进冰浴行匀浆。3500g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

3、血清样品：直接检测（血浆样品 3000 转 10 分钟离心成血清）

● 测定操作表：

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。

2、标准曲线的测定

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)
90	30	1.5
60	60	1
45	75	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) 预热 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。

六、计算

1、标准曲线的绘制:

以各标准溶液浓度为 x 轴, 以 ΔA (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。

2、GPT 活性计算:

● 按样本鲜重计算:

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

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

- 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 1 μ mol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

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

- 按血清体积计算：

单位定义：每小时每 mL 血清样品催化产生 1 μ mol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

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

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：样本鲜重，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；T：反应时间，0.5h。