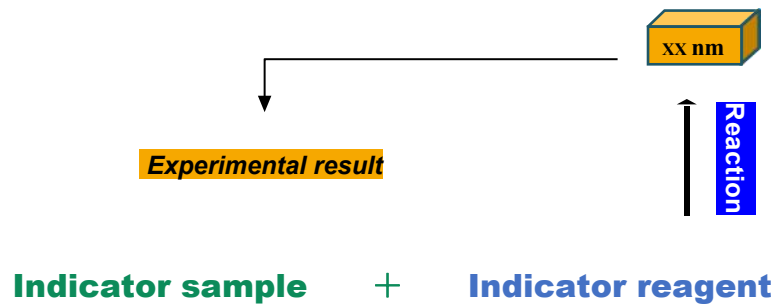


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

谷丙转氨酶（GPT）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 3.5 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体 3.5 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	液体 30 mL×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

产品说明：

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。

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。

试验中所需的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样品测定的准备

1、细胞或细菌的制备：

先收集细胞或细菌样品到离心管内，弃上清，按照每 500 万细胞或细菌加入 1mL 提取液，超声波破碎细胞或细菌（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）

二、测定步骤1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。

2、标准曲线的测定

首先用蒸馏水将标准品稀释至 $2 \mu\text{mol/mL}$ ，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 ($\mu\text{mol/mL}$)
22.5	7.5	1.5
15	15	1
12	18	0.8
6	24	0.4
3	27	0.2
1.5	28.5	0.1
0.75	29.25	0.05
0	30	0

3、在 EP 管或在 96 孔板中加入下列试剂

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
待测样本	5		
试剂一	25	25	
标准液			30

混匀后， 37°C （哺乳动物）或 25°C （其它物种）预热 30min

试剂二	25	25	25
待测样本		5	

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

试剂三	240	240	240
-----	-----	-----	-----

混匀，室温放置 10min，在 505nm 波长处测各管吸光度。注： $0 \mu\text{mol/mL}$ 标准管为空白管。

三、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：

a. 按样本鲜重计算：

单位定义：每小时每 g 样品催化产生 $1 \mu\text{mol}$ 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

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

b. 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 $1 \mu\text{mol}$ 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

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

c. 按血清（浆）体积计算：

单位定义：每小时每 mL 血清（浆）样品催化产生 $1\mu\text{mol}$ 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

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

d. 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 $1\mu\text{mol}$ 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

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

$V_{\text{样本}}$ ：样本体积，0.005mL； $V_{\text{试剂一}}$ ：试剂一体积，0.025mL； $V_{\text{样总}}$ ：提取液体积，1mL； W ：样本鲜重，g； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； T ：反应时间，0.5h；500：细胞或细菌总数，万。