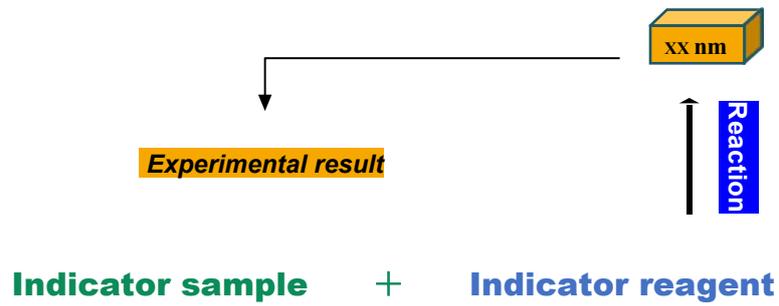


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



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 可见分光光度法

**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。**

土壤过氧化物酶（S-POD）是土壤中的一种氧化还原酶，主要来源于土壤微生物，可催化过氧化氢，氧化酚类和胺类化合物和烃类氧化产物，可消除过氧化氢和酚类、醛类等物质的毒害作用，在腐殖质的形成过程中具有重要作用，其活性可表征土壤呼吸强度和微生物活动状况。

土壤过氧化物酶可催化有机物质氧化成醌，产物在 430 nm 处有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可表征土壤过氧化物酶活性。

### 二、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 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

### 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、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。

操作步骤:

一、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°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 提取液进冰浴行匀浆。3500g 4°C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 2 $\mu$ 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 ( $\mu$ L)	试剂一 ( $\mu$ L)	标准管浓度 ( $\mu$ mol/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 ( $\mu$ L)	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:0 $\mu$ 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  $\Delta A$  (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。

#### 2、GPT 活性计算：

##### a. 按样本鲜重计算：

单位定义：每小时每 g 鲜重样品催化产生  $1\mu\text{mol}$  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。

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

#### (2) 按血清体积计算：

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

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

$V_{\text{样本}}$ ：样本体积，0.02mL； $V_{\text{试剂一}}$ ：试剂一体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：提取液体积，1mL；

$W$ ：样本鲜重，g； $C_{\text{pr}}$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL； $T$ ：反应时间，0.5h。