Beijing Solarbio Science & Technology Co., Ltd
Tel: 400-968-6088
Fax: 010-56371281
Http://www.solarbio.com

谷丙转氨酶（GPT/ALT）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC1555

规格：100T/48S

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 60 mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	粉剂×2 支	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
标准液	液体 1 mL×1 支	4℃保存

溶液的配制：

1、 试剂一：提供 1 个 8 mL 棕瓶；临用前取 1 支试剂一倒入空瓶中，用 2 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。

产品说明：

谷丙转氨酶又叫丙氨酸氨基转移酶（EC 2.6.1.2），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。

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/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/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、细胞或细菌的制备：先收集细胞或细菌样本到离心管内，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 提取液进行冰浴匀浆。3500g，4℃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）
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℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）反应30min

试剂二	25	25	25
待测样本		5	

混匀后，37℃（哺乳动物）或25℃（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：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：

（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。

GPT（U/g 质量）=x×（V样本+V试剂一）÷（W×V样本÷V样总）÷T=12x÷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。

GPT（U/mg prot）=x×（V样本+V试剂一）÷（Cpr×V样本）÷T=12x÷Cpr

（3）按血清（浆）体积计算：

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

GPT（U/mL）=x×（V样本+V试剂一）÷V样本÷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。

GPT（U/10^4 cell）=x×（V样本+V试剂一）÷（500×V样本÷V样总）÷T=0.024x

V样本：样本体积，0.005mL；V试剂一：试剂一体积，0.025mL；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，用 96 孔板测得 A 测定管=0.701，A 对照管=0.271，计算ΔA=A 测定管-A 对照管=0.701-0.271=0.430，带入标准曲线 y=0.2796x+0.0476，计算 x=（0.430-0.0476）÷0.2796=1.368，按样本质量计算酶活得：

GPT（U/g 质量）=12x÷W=12×1.368÷0.1=164.16 U/g 质量。

2、 取兔血清直接检测，使用 96 孔板测得 A 测定管=0.307，A 对照管=0.247，计算ΔA=A 测定管-A 对照管=0.307-0.247=0.06，带入标准曲线 y=0.2796x+0.0476，计算 x=（0.06-0.0476）÷0.2796=0.044，按血清（浆）体积计算酶活得：

GPT（U/mL）=12x=12×0.044=0.528 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