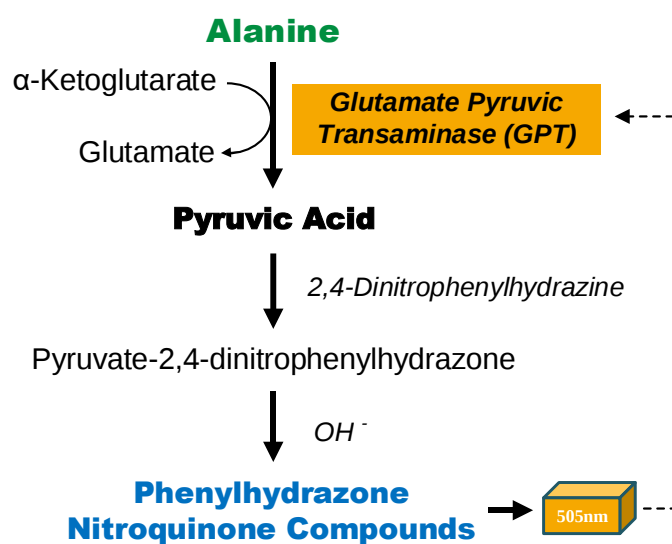




谷丙转氨酶（GPT）活性检测试剂盒

Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



谷丙转氨酶（GPT）活性检测试剂盒

Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT) Activity Assay Kit

一、产品描述

转氨酶是催化氨基酸与酮酸之间氨基转移的一类酶，普遍存在于动物、植物组织和微生物中，谷丙转氨酶(GPT)主要催化谷氨酸与丙酮酸之间的转氨作用，在机体氨基酸代谢过程中具有重要作用。谷丙转氨酶是反映肝细胞受损的参照指标，肝细胞或某些组织损伤或坏死，转氨酶便会释放到血液中使谷丙转氨酶升高，在一些疾病的诊断方面具有重要意义。

谷丙转氨酶催化丙氨酸和 α -酮戊二酸发生转氨基反应，生成丙酮酸和谷氨酸，酮酸中羰基能够与 2,4-二硝基苯肼反应生成丙酮酸苯腙，苯腙在碱性条件下呈红棕色，产物在 505 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可表征谷丙转氨酶的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液		液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	组分 A	粉剂×2 支	4°C保存	使用前取 1 支组分 A 加入组分 B 中充分溶解 (组分 A 中加入适量组分 B 充分溶解后，再洗入组分 B 中)
	组分 B	液体 4 mL×2 瓶	4°C保存	
试剂二		液体 4 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂三		液体 40 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液		液体 1 mL×1 支	4°C避光保存	20 μ mol/mL 丙酮酸钠标准液
标准稀释液的制备：将 20 μ mol/mL 丙酮酸钠标准液使用蒸馏水稀释 10 倍至 2.0 μ mol/mL；再将 2.0 μ mol/mL 稀释液使用试剂一稀释至 1.6、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 μ mol/mL 即为标准稀释液。				

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μ mol/mL)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
标准液体积 (μ L)	200	100	50	25	25	25
试剂一体积 (μ L)	50	150	200	225	475	975
稀释后浓度 (μ mol/mL)	1.6	0.8	0.4	0.2	0.1	0.05

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②组织：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：(5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

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

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	5	-	-	-
标准稀释液	-	-	30	-
试剂一	25	25	-	30
37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）准确反应 30 min				
试剂二	25	25	25	25
粗酶液	-	5	-	-
37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）准确反应 20 min				
试剂三	250	250	250	250
充分混匀，室温显色 10 min				

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液于 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 505 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以 1.6、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 $\mu\text{mol/mL}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

3.谷丙转氨酶（GPT）活性计算

①按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每小时催化生成 1 μmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPT (U/g)} = \frac{x \times (V_{\text{样}} + V_1) \times V_{\text{样总}}}{W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{12 \times x}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每小时催化生成 1 μmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPT (U/mg prot)} = \frac{x \times (V_{\text{样}} + V_1)}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{12 \times x}{C_{\text{pr}}}$$

③按细胞或细菌数量计算

单位定义：每 10⁴ 个细菌或细胞每小时催化生成 1 μmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPT (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{x \times (V_{\text{样}} + V_1) \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{12 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时催化生成 1 μmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPT (U/mL)} = \frac{x \times (V_{\text{样}} + V_1)}{V_{\text{样}} \times T} = 12 \times x$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.005 mL；V₁：反应体系中加入试剂一的体积，0.025 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；W：样本质量，g；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；细胞或细菌数量：以万计；T：反应时间，0.5 h。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准线性吸光范围：高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

