

# 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：AC10334

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，有疑问请及时联系本公司工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	粉剂×2 支	4°C保存
试剂二	液体 3.5 mL×1 瓶	4°C保存
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C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 $\alpha$ -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°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。

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

(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。

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

(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1 $\mu$ mol丙酮酸的量为一个GPT活力单位。

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

(4) 按细胞或细菌数量计算：

单位定义：每小时每10<sup>4</sup>个细胞或细菌催化产生1 $\mu$ mol丙酮酸的量为一个GPT活力单位。

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

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；Cp：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 $\Delta A = A$  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  $x = (0.430 - 0.0476) \div 0.2796 = 1.368$ ，按样本质量计算酶活得：

$$\text{GPT (U/g 质量)} = 12x \div W = 12 \times 1.368 \div 0.1 = 164.16 \text{ U/g 质量。}$$

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 $\Delta A = A$  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  $x = (0.06 - 0.0476) \div 0.2796 = 0.044$ ，按血清（浆）体积计算酶活得：

$$\text{GPT (U/mL)} = 12x = 12 \times 0.044 = 0.528 \text{ U/mL。}$$

### 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.