

谷丙转氨酶（GPT）活性检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1112

产品规格：100管/48样

产品简介：

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。

产品内容：

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，20 μ mol/mL丙酮酸钠标准品，4℃保存。

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、冰和蒸水。

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（浆）样品：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、标准曲线的测定

首先将标准品稀释至2 μ 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 (μ L)	试剂一 (μ L)	标准管浓度 (μ mol/mL)
22.5	7.5	1.5
15	15	1
12	18	0.8
6	24	0.4
3	27	0.2



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

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:0μmol/mL 标准管为空白管。

三、计算公式:

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) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每小时每g样品催化产生1μmol丙酮酸的量为一个GPT活力单位。

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

(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)样品催化产生1μmol丙酮酸的量为一个GPT活力单位。

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

(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。

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

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: 样本鲜重, 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, 万。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com