

谷丙转氨酶 (GPT) 活性检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0751	谷丙转氨酶 (GPT) 活性检测试剂盒	100 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 60mL ×1 瓶	4°C
试剂一	液体 3.5mL ×1 瓶	4°C
试剂二	液体 3.5mL ×1 瓶	4°C
试剂三	液体 30mL ×1 瓶	4°C
标准品	液体 1mL×1 支, 20μmol/mL 丙酮酸钠标准品。	4°C

一、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。

二、自备材料

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、冰和蒸馏水。

三、样本准备:

- 1、组织: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液进冰浴匀浆。3500g 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞或细菌: 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°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、血清 (血浆) 样本: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 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 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°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。			

五、活性的计算

1、标准曲线制作:

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、按照样本鲜重计算:

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。

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

3、按照样本蛋白浓度计算:

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。

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

4、按照血清 (血浆) 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。

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

5、按照细胞或者细菌数量计算:

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。

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

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。