

谷丙转氨酶（GPT/ALT）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

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：BC1550

规格：50T/24S

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 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×2 支	2-8℃保存
试剂二	液体 8 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 80 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

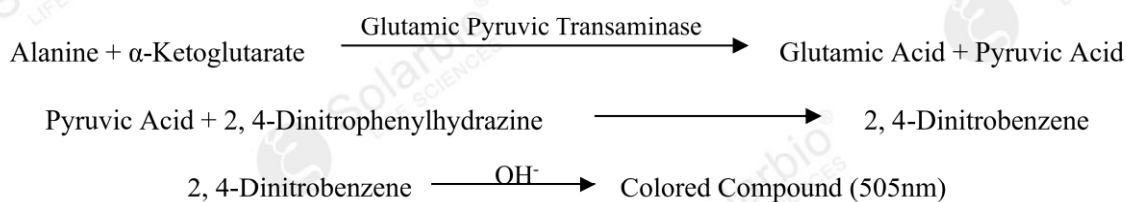
溶液的配制：

- 1、试剂一：同时提供两个 8 mL 棕瓶；临用前取一支试剂一倒入一个空瓶中，用 4 mL 蒸馏水溶解，再用溶液将试剂一残留试剂润洗下来，2-8℃保存 4 周；该试剂为冻干试剂，可能存在肉眼观察试剂量相差较大甚至量很少的现象，此现象不影响使用，实际质量相同；
- 2、标准品：20 μmol/mL 丙酮酸钠溶液。

产品说明：

谷丙转氨酶又叫丙氨酸氨基转移酶（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性。



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、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、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、细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ 10^6 个）：提取液体积（mL）为 5~10: 1 的比例（建议 5 百万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，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：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例（建议称取约 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。若有浑浊离心取上清使用。

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热30min以上，调节波长至505nm，蒸馏水调零。
- 2、标准曲线的稀释：将20 $\mu\text{mol/mL}$ 丙酮酸钠溶液用蒸馏水稀释至1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05、0 $\mu\text{mol/mL}$ （0即为空白管）。
- 3、标准品稀释表：

序号	稀释前浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)
1	20	50	950	1
2	1	200	50	0.8
3	1	150	100	0.6
4	1	200	300	0.4
5	0.4	250	250	0.2
6	0.2	250	250	0.1
7	0.1	250	250	0.05
8 (空白管)	-	-	250	0

备注：实验中每个标准管需 120 μL 标准品（注意不要在此步骤直接检测吸光值）。

- 4、在EP管中加入下列试剂：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
待测样本	20	-	-
试剂一	100	100	-
标准品	-	-	120
混匀后，37℃反应30min			-
试剂二	100	100	100
待测样本	-	20	-
混匀后，37℃反应20min			-
试剂三	1000	1000	1000

混匀，常温放置10min，吸取反应液于505nm波长处测定吸光度，记为A测定管、A对照管、A标准管和A空白管（即0 $\mu\text{mol/mL}$ 标准点），计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。标准曲线只需做1-2次。

三、GPT 活性计算

1. 标准曲线的绘制：
以各标准品浓度为x轴，以 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为y轴做标准曲线，得到方程 $y=kx+b$ 。将 ΔA 带入方程求x值（ $\mu\text{mol/mL}$ ）。
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1 μ mol丙酮酸的量为一个GPT活性单位。

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

(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1 μ mol丙酮酸的量为一个GPT活性单位。

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

(3) 按血清体积计算:

单位定义: 每小时每mL血清样本催化产生1 μ mol丙酮酸的量为一个GPT活性单位。

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

(4) 按细胞或细菌数量计算:

单位定义: 每小时每10⁶个细胞或细菌催化产生1 μ mol丙酮酸的量为一个GPT活性单位。

$$\text{GPT活性 (U/10}^6 \text{ cell)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div (N \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times F = 12x \div N \times F$$

V样本: 样本体积, 0.02mL; V试剂一: 试剂一体积, 0.1mL; 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; N: 细胞或细菌总数, 以百万计; F: 样本稀释倍数。

实验实例:

- 1、取 0.103g 兔子肝脏组织加入 1mL 提取液进行匀浆研磨, 取上清后用蒸馏水稀释 2 倍再按照测定步骤操作, 用玻璃比色皿测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.980 - 0.433 = 0.547$, 带入标准曲线 $y = 1.1563x + 0.0024$, $R^2 = 0.9992$, 计算 $x = 0.471$, 按样本质量计算酶活得:

$$\text{GPT 活性 (U/g 质量)} = 12x \div W \times F = 109.75 \text{ U/g 质量。}$$

- 2、取 6.6×10^6 个 HEB 细胞, 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, 使用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.48 - 0.424 = 0.056$, 标准曲线 $y = 1.1563x + 0.0024$, $R^2 = 0.9992$, $x = 0.046$, 按细胞数量计算酶活得:

$$\text{GOT 活性 (U/10}^6 \text{ cell)} = 12x \div N \times F = 0.084 \text{ U/10}^6 \text{ cell}$$

相关发表文献:

- [1] Li Y, Fu Y, Zhang Y, Duan B, Zhao Y, Shang M, Cheng Y, Zhang K, Yu Q, Wang T. Nuclear Fructose-1,6-Bisphosphate Inhibits Tumor Growth and Sensitizes Chemotherapy by Targeting HMGB1. *Adv Sci (Weinh)*. 2023 Mar;10(7):e2203528. doi: 10.1002/advs.202203528. Epub 2023 Jan 15. PMID: 36642839; PMCID: PMC9982576.
- [2] Yue C, Li D, Fan S, Tao F, Yu Y, Lu W, Chen Q, Yuan A, Wu J, Zhao G, Dong H, Hu Y. Long-term and liver-selected ginsenoside C-K nanoparticles retard NAFLD progression by restoring lipid homeostasis. *Biomaterials*. 2023 Oct;301:122291. doi: 10.1016/j.biomaterials.2023.122291. Epub 2023 Aug 20. PMID: 37619263.
- [3] Tian D, Yu Y, Yu Y, Lu L, Tong D, Zhang W, Zhang X, Shi W, Liu G. Tris(2-chloroethyl) Phosphate Exerts Hepatotoxic Impacts on Zebrafish by Disrupting Hypothalamic-Pituitary-Thyroid and Gut-Liver Axes. *Environ Sci Technol*. 2023 Jun 20;57(24):9043-9054. doi: 10.1021/acs.est.3c01631. Epub 2023 Jun 5. PMID: 37276532.
- [4] Xiang J, Wang SW, Tao Y, Ye JZ, Liang Y, Peng XX, Yang LF, Li H. A glucose-mediated antibiotic resistance metabolic flux from glycolysis, the pyruvate cycle, and glutamate metabolism to purine metabolism. *Front Microbiol*. 2023 Oct 17;14:1267729. doi: 10.3389/fmicb.2023.1267729. PMID: 37915850; PMCID: PMC10616527.





[5] Pan L, Yang L, Yi Z, Zhang W, Gong J. TBK1 participates in glutaminolysis by mediating the phosphorylation of RIPK3 to promote endotoxin tolerance. Mol Immunol. 2022 Jul;147:101-114. doi: 10.1016/j.molimm.2022.04.009. Epub 2022 May 6. PMID: 35533409.

参考文献:

[1] Zhao W, Wei H. Effects of cadmium on transaminase activities and structures of tissues in freshwater giant prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) [J]. Journal of Fisheries of China, 1995,19(001):21-27.

[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

