

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：BC1555

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×2 支	2-8℃保存
试剂二	液体 3.5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

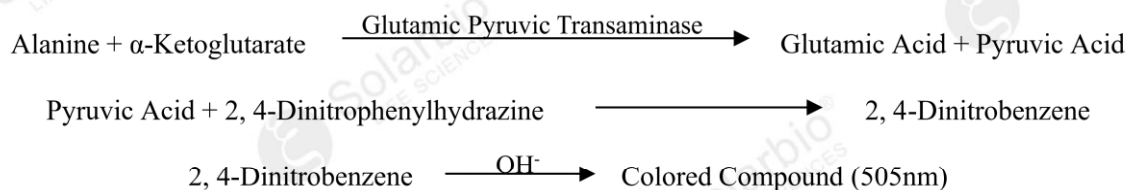
溶液的配制：

- 1、试剂一：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，2-8℃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。

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/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/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、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至505nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 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 ($\mu\text{mol/mL}$)	标准品体积 (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 30 μL 标准品（注意不要在此步骤直接检测吸光值）。

4、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	-
标准品	-	-	30
混匀后，37℃反应30min			
试剂二	25	25	25
待测样本	-	5	-
混匀后，37℃反应20min			
试剂三	240	240	240

混匀，常温放置10min，吸取200 μL 反应液于96孔板或微量比色皿中，测定505nm波长处的吸光度，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 ΔA 标准=A标准管-A空白管， ΔA =A测定管-A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ΔA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（μmol/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1μmol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1μmol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（浆）体积计算：

单位定义：每小时每mL血清（浆）样本催化产生1μmol丙酮酸的量为一个GPT活性单位。

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

(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1μmol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，0.005mL；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；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 兔肝脏组织加入 1mL 提取液进行匀浆研磨，取上清后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.934 - 0.391 = 0.543$ ，带入标准曲线 $y = 0.7915x - 0.0107$ ， $R^2 = 0.9995$ ，计算 $x = 0.700$ ，按样本质量计算酶活得：

$$\text{GPT 活性 (U/g 质量)} = 12x \div W \times F = 81.56 \text{ U/g 质量。}$$

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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.361 - 0.325 = 0.036$ ，标准曲线 $y = 0.7915x - 0.0107$ ， $R^2 = 0.9995$ ， $x = 0.059$ ，按细胞数量计算酶活得：

$$\text{GOT 活性 (U/10}^6 \text{ cell)} = 12x \div N \times F = 0.107 \text{ U/10}^6 \text{ cell}$$

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] 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.
- [3] Ji M, Su L, Liu L, Zhuang M, Xiao J, Guan Y, Zhu S, Ma L, Pu H. CaMKII regulates the proteins TPM1 and MYOM2 and promotes diacetylmorphine-induced abnormal cardiac rhythms. *Sci Rep*. 2023 Apr 10;13(1):5827. doi: 10.1038/s41598-023-32941-6. PMID: 37037889; PMCID: PMC10085977.
- [4] 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.

- [5] Bao Z, Guo C, Chen Y, Li C, Lei T, Zhou S, Qi D, Xiang Z. Fatty acid metabolism and insulin regulation prevent liver injury from lipid accumulation in Himalayan marmots. Cell Rep. 2023 Jul 25;42(7):112718. doi: 10.1016/j.celrep.2023.112718. Epub 2023 Jun 28. PMID: 37384524.

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

