

甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶测定试剂盒

（甘氨酸脯氨酸对硝基苯胺底物法）说明书

【产品名称】

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHF3-M48	甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶（GPDA）活性检测试剂盒	48T	微量法
AYHF3-M96		96T	微量法

【预期用途】

用于体外定量测定人血清中甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶的活性。
临床上主要用于肝胆疾病、胃肠疾病的辅助诊断。

【检验原理】

在碱性条件下，GPDA催化底物甘氨酸脯氨酸对硝基苯胺水解，生成甘氨酸脯氨酸和对硝基苯胺，在405nm处检测对硝基苯胺的吸光度变化，吸光度的升高速率与GPDA活性成正比。

甘氨酸脯氨酸对硝基苯胺 $\xrightarrow{\text{GPDA}}$ 甘氨酸脯氨酸 + 对硝基苯胺

试剂盒组成	主要组分
试剂 1	三（羟甲基）氨基甲烷双甘肽缓冲液 氯化钠
试剂 2	两性离子缓冲液 甘氨酸脯氨酸对硝基苯胺对甲苯磺酸 氯化钠 叠氮钠

【主要组成成分】

【样本要求】

1、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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。

5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、血清（浆）等液体：直接测定。

【检验方法】

1.试剂配制：液体试剂开启即可使用

2.测定条件

波长	405nm/800nm	校正类型	线性
样本/试剂 1/试剂 2	15/225/75	血清+试剂 1 时间	3~5min
方法	速率法	加入试剂 2 后反应时间	3min
校正方法	两点定标	反应方向	向上

3.校准程序：

推荐使用本公司配套校准品，该校准品溯源至公司内部校准品，通过与朗道公司校准品比对赋值。也可使用 Randox 校准血清。

4.质控控制程序：

选用试剂盒配套的质控品或 Randox 质控血清，质控测定值应在规定的范围内。

5.操作步骤：双试剂操作

样品	15μL
试剂 1	225 μL
混匀，37℃孵育 3~5min	
试剂 2	75μL
混匀，置 37℃孵育 180s，读取吸光度 A1，连续监测 2min 吸光率变化，计算ΔA/min	

【甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶（GPDA）活性计算】

1、按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化 1 微摩尔（μmol）Gly-Pro-pNA 水解，释放 1 微摩尔对硝基苯胺（pNA）所需的酶量。

$$\text{GPDA(U/mg prot)}=[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T$$

2、按样本质量计算

单位定义：每克组织每分钟催化 1 微摩尔（μmol）Gly-Pro-pNA 水解，释放 1 微摩尔对硝基苯胺（pNA）所需的酶量。

$$\text{GPDA(U/g 质量)}=[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T$$

3、血清（浆）等液体计算

单位定义：每毫升液体每分钟催化 1 微摩尔（μmol）Gly-Pro-pNA 水解，释放 1 微摩尔对硝基苯胺（pNA）所需的酶量。

$$\text{GPDA(U/mL)}=[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，315×10⁻³ L； ϵ ：pNA的摩尔吸光系数（9.9×10³）L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.015mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，3min；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol；W：样本质量，g；