

## 谷丙转氨酶（GPT/ALT）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHD3-M48	谷丙转氨酶(GPT/ALT) 试剂盒	48T	微量法
AMHD3-M96		96T	微量法

### 一、测定意义：

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。

### 二、测定原理：

GPT 催化丙氨酸和 $\alpha$ -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。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	液体 10 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	液体 10 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂三	液体 25 mL×1 瓶	液体 50 mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2~8℃保存

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

- 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、细菌/细胞：按照细胞数量（ $10^4$  个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴

超声波破碎细胞（功率 200W，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 5min）；然后 10000g，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂一于 37℃温浴 5min 后使用。
- 3、临用前在标准品粉剂中加入 1mL 蒸馏水得到 100 $\mu$ mol/mL 的标准液，再将 100 $\mu$ mol/mL 的标准液用蒸馏水稀释 50 倍得到 2 $\mu$ mol/mL 的标准液，随后将 2 $\mu$ mol/mL 的标准液稀释成 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.2、1.6  $\mu$ mol/mL 标准液进行标准曲线的制备，详见附录 I。
- 4、操作表（在离心管中加入以下试剂）

试剂名称	对照管	测定管	标准管	空白管
粗酶液（ $\mu$ L）	10	10	-	-
试剂一（ $\mu$ L）	-	40	-	-
混匀各管，于 37℃恒温水浴锅内，准确保温 30min				
蒸馏水（ $\mu$ L）	-	-	-	10
不同浓度标准液（ $\mu$ L）	-	-	10	-
试剂一（ $\mu$ L）	40	-	40	40
试剂二（ $\mu$ L）	40	40	40	40
混匀各管，于 37℃恒温水浴锅内，保温 20min				
试剂三（ $\mu$ L）	200	200	200	200
混匀各管，5min 后，30min 内取 200 $\mu$ L 于 505nm 波长，空白管调零，酶标仪读取各管吸光度，分别记为 $A_{\text{测定管}}$ ， $A_{\text{对照管}}$ ， $A_{\text{标准管}}$ ， $A_{\text{空白管}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ； $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。				

### 五、谷丙转氨酶活性计算：

1. 标准曲线的绘制：以各标准溶液浓度为 x 轴，以  $\Delta A_{\text{标准}}$  为 y 轴做标准曲线，得到方程  $y=kx+b$ 。将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入方程求 x 值（ $\mu$ 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 $\mu$ mol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

**计算公式：** $GPT(U/g) = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂-}}) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样本总}}) \div T = 10 \times x \div W$

(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 1 $\mu$ mol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

**计算公式：** $GPT(U/mg \text{ prot}) = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂-}}) \div (Cpr \times V_{\text{样本}}) \div T = 10 \times x \div Cpr$

(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 $\mu$ mol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

**计算公式：** $GPT(U/mL) = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂-}}) \div V_{\text{样本}} \div T = 10 \times x$

(4) 按细胞或细菌数量计算：

**单位定义：**每小时每 10<sup>6</sup> 个细胞或细菌催化产生 1 $\mu$ mol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

**计算公式：** $GPT(U/10^6 \text{ cell}) = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂-}}) \div (N \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样本总}}) \div T = 10 \times x \div N$

$V_{\text{样本}}$ ：样本体积，0.01mL； $V_{\text{试剂-}}$ ：试剂一体积，0.04mL； $V_{\text{样本总}}$ ：

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。

## 六、注意事项：

1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本，稀释成不同浓度进行预试，以选取最佳取样浓度；

2、若对照孔 OD 值减去测定孔 OD 值高于 0.4 时，可将样本用提取液进行稀释，计算时乘以相应的稀释倍数即可；若测定孔 OD 值减去对照孔 OD 值低于 0.01 时，可以增加样本取样量或者取样浓度。

## 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

## 【售后微信】



## 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日