

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 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。

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 (10⁴ 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 100μmol/mL 的标准液，再将 100μmol/mL 的标准液用蒸馏水稀释 50 倍得到 2μmol/mL 的标准液，随后将 2μmol/mL 的标准液稀释成 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.2、1.6 μmol/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 (μL)	10	10	-	-
试剂一 (μL)	-	40	-	-
混匀各管，于 37℃恒温水浴锅内，准确保温 30min				
蒸馏水 (μL)	-	-	-	10
不同浓度标准液 (μL)	-	-	10	-
试剂一 (μL)	40	-	40	40
试剂二 (μL)	40	40	40	40
混匀各管，于 37℃恒温水浴锅内，保温 20min				
试剂三 (μL)	200	200	200	200
混匀各管，5min 后，30min 内取 200μL 于 505nm 波长，空白管调零，酶标仪读取各管吸光度，分别记为 A _{测定管} , A _{对照管} , A _{标准管} , A _{空白管} ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$; $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。				

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 $\Delta A_{标准}$ 为 y 轴做标准曲线，得到方程 $y=kx+b$ 。将 $\Delta A_{测定}$ 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 1 μmol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

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

(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 μmol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

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

(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 μmol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

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

(4) 按细胞或细菌数量计算:

单位定义: 每小时每 10^6 个细胞或细菌催化产生 1 μmol 丙酮酸的量为一个 GPT 活力单位。

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

$V_{\text{样本}}$: 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