

## 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
PMHE5-C24	谷丙转氨酶(GPT/ALT)活性检测试剂盒	24T	常量法
PMHE5-C48		48T	

### 一、测定意义：

谷丙转氨酶又叫丙氨酸氨基转移酶，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(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 12mL×1 瓶	液体 24mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 12mL×1 瓶	液体 24mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 60mL×1 瓶	液体 120mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2~8℃保存

**标准品的配制：**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。

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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)，旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g, 4℃离心 10min, 取上清液置冰上待测。

#### 测定步骤

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零；
- 将 2 $\mu$ mol/mL 的标准液用蒸馏水稀释成 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.2、1.6  $\mu$ mol/mL 标准液备用；
- 操作表（在离心管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
粗酶液 ( $\mu$ L)	50	-	-	-
试剂一 ( $\mu$ L)	200	200	200	200
混匀各管，于 37℃恒温水浴锅内，准确保温 30min				
蒸馏水 ( $\mu$ L)	-	-	-	50
不同浓度标准液 ( $\mu$ L)	-	-	50	-
试剂二 ( $\mu$ L)	200	200	200	200
粗酶液 ( $\mu$ L)	-	50	-	-
混匀各管，于 37℃恒温水浴锅内，保温 20min				
试剂三 ( $\mu$ L)	1000	1000	1000	1000

混匀各管，5min 后，30min 内于 505nm 波长，空白管调零，分光光度计分别读取各管吸光度，分别记为 A 测定，A 对照，A 标准，A 空白，计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ； $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注意：标准管和空白管只需做 1-2 次。

#### 五、谷丙转氨酶(GPT/ALT)活性计算：

##### 1. 标准曲线的绘制：

以各标准溶液浓度为 y 轴，以  $\Delta A_{\text{标准}}$  为 x 轴拟合标准曲线。将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入方程计算出 y 值 ( $\mu$ mol/mL)。

##### 2、按样本鲜重计算：

**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 GOT 活力单位。

$$\text{GOT 活力 (U/g 质量)} = y \div (W \div V_{\text{样总}}) \div T = 2 \times y \div W$$

##### 3、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 GOT 活性单位。

GOT 活性 (U/mg prot) =  $y \div C_{pr} \div T = 2 \times y \div C_{pr}$

$V_{\text{样总}}$ : 提取液总体积, 1mL; W: 样本质量, g;  $C_{pr}$ : 样本蛋白质浓度, mg/mL; T: 反应时间, 0.5h。

## 六、注意事项:

- 1、不同样本活性差异较大，需要先做预实验摸索样本浓度或者取样量；
- 2、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。

## 【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