

谷丙转氨酶 (ALT/GPT) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0321	谷丙转氨酶 (ALT/GPT) 活性检测试剂盒	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 30mL × 1 瓶	4℃
试剂一	粉剂×2 瓶 (同时提供两个 8mL 棕瓶) : 临用前取一支试剂一倒入一个空瓶中, 用 4mL 蒸馏水溶解, 再用溶液将试剂一残留试剂润洗下来。	4℃
试剂二	液体 8mL × 1 瓶	4℃
试剂三	液体 80mL × 1 瓶	4℃
标准品	液体 1mL×1 支, 20μmol/mL 丙酮酸钠标准品。	4℃

一、产品说明

谷丙转氨酶 (ALT/GPT) (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。

谷丙转氨酶 (ALT/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。

二、自备材料

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品制备

- 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。
- 2、细胞/细菌: 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 (10^4 个) : 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 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 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 3500g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、血浆/血清: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 505nm, 蒸馏水调零。
- 2、首先将标准品用蒸馏水稀释至 2μmol/mL, 按下表混合标准品和试剂一得到相应浓度度标准管:

标准品 (μL)	试剂一 (μL)	标准管浓度 (μmol/mL)
90	30	1.5
60	60	1
45	75	0.8
36	84	0.6
24	96	0.4
12	108	0.2
6	114	0.1
3	117	0.05
0	120	0

3、在 EP 管中依次加入下列试剂:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
样本	20		
试剂一	100	100	
标准液			120
混匀后, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 预热 30min。			
试剂二	100	100	100
样本		20	
混匀后, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 准确水浴 20min。			
试剂三	1000	1000	1000
混匀, 室温放置 10min, 在 505nm 波长处, 测各管吸光度。注: 0μmol/mL 标准管为空白管。			

五、活性的计算

1、标准曲线:

以各标准溶液浓度为 x 轴, 以 ΔA (A 标准管-A 空白管) 为 y 轴做标准曲线, 得到方程 $y=kx+b$ 。将 (A 测定管-A 对照管) 带入方程求 x 值。

2、按照样本蛋白浓度计算:

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 ALT/GPT 活力单位。

$$\text{ALT/GPT (U/mg prot)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 12x \div C_{\text{p}}$$

3、按照样本鲜重计算:

单位定义: 每小时每 g 鲜重样品催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个 ALT/GPT 活力单位。

$$\text{ALT/GPT (U/g 鲜重)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 12x \div W$$

4、按照细菌/细胞密度计算:

单位定义: 每小时每 10^4 细菌或细胞催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个 ALT/GPT 活力单位。

$$\text{ALT/GPT (U/10}^4\text{ceLL)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 0.024x$$

5、按照血清/血浆体积计算:

单位定义: 每小时每 mL 血清样品催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个 ALT/GPT 活力单位。

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

V 样本: 样本体积, 0.02mL; V 试剂一: 试剂一体积, 0.1mL; V 样总: 提取液体积, 1mL;

W: 样本鲜重, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; T: 反应时间, 0.5h; 500: 细胞数量, 500 万个。