谷丙转氨酶（ALT/GPT）活性检测试剂盒（微量法）
（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
YFX0751	谷丙转氨酶（ALT/GPT）活性检测试剂盒（微量法）	100 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 60mL ×1 瓶	4℃
试剂一	液体 2.5mL ×1 瓶	4℃
试剂二	液体 3mL ×1 瓶	4℃
试剂三	液体 25mL ×1 瓶	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/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品准备

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。8000g 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）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

3、血浆/血清：直接检测。对照管若煮沸后血清出现凝固，可以进行 8000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

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、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。

2、在 EP 管或在 96 孔板中加入下列试剂：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
样本	10	

煮沸 10min 的待测样本		10
试剂一	25	
蒸馏水		25
混匀后，37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）准确反应 20min。		
试剂二	25	25
混匀后，37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）准确反应 20min。		
试剂三	240	240
混匀，室温（25℃）放置 10min，在 505nm 波长处测各管吸光度 A 。 ΔA=A 测定管-A 对照管。每个测定管需设一个对照管。		

五、活性的计算

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下：

标准条件下测定的回归曲线， y＝0.2114x+0.0003 (x 为标准品浓度，μmoL/mL；y 为 ΔA)。

1、按照样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1nmoL 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

GPT（nmoL/min/mg prot）=[(ΔA-0.0003）÷0.2114×V1]÷(V1×Cpr)÷T×10^3

=236.5× (ΔA-0.0003）÷Cpr。

蛋白浓度需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

2、按照样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟催化产生 1nmoL 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

GPT（nmoL/min/g 鲜重）=[(ΔA-0.0003）÷0.2114×V1]÷(W×V1÷V2)÷T×10^3

=236.5× (ΔA-0.0003）÷W。

3、按照细胞或细菌数量计算

单位的定义：每 1 万个细胞或细菌每分钟催化产生 1nmoL 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

GPT（nmoL/min/10^4ceLL）=[(ΔA-0.0003）÷0.2114×V1]÷(500×V1÷V2)÷T×10^3

=0.473× (ΔA-0.0003）。

4、按照血清或血浆提及计算：

单位的定义：每 mL 血清或血浆每分钟催化产生 1nmoL 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

GPT（nmoL/min/mL）=(ΔA-0.0003）÷0.2114÷T×10^3 =236.5× (ΔA-0.0003）。

V1：加入反应体系中样本体积，0.01mL；V2：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，20 min；

Cpr：蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500 万；

10^3：1μmoL/mL=10^3 nmoL/mL。

B. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下：

标准条件下测定的回归曲线， y＝0.4228x+0.0003 (x 为标准品浓度，μmoL/mL；y 为 ΔA)。

1、按照组织蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1nmoL 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

GPT（nmoL/min/mg prot）=[(ΔA-0.0003）÷0.4228×V1]÷(V1×Cpr)÷T×10^3

=118.26× (ΔA-0.0003）÷Cpr。

蛋白浓度需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

2、按照样本鲜重计算

单位的定义：每 g 组织每分钟催化产生 1nmoL 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

GPT（nmoL/min/g 鲜重）=[(ΔA-0.0003）÷0.4228×V1]÷(W×V1÷V2)÷T×10^3
=118.26× (ΔA-0.0003）÷W。
3、按照细菌/细胞密度计算
单位的定义：每 1 万个细胞或细菌每分钟催化产生 1nmoL 丙酮酸定义为一个酶活力单位。
GPT（nmoL/min/10^4ceLL）=[(ΔA-0.0003）÷0.4228×V1]÷(500×V1÷V2)÷T×10^3
=0.236× (ΔA-0.0003）。
4、按照血清/血浆体积计算
单位的定义：每 mL 血清或血浆每分钟催化产生 1nmoL 丙酮酸定义为一个酶活力单位。
GPT（nmoL/min/mL）=(ΔA-0.0003）÷0.4228÷T×10^3 =118.26× (ΔA-0.0003）。

V1：加入反应体系中样本体积，0.01mL；V2：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，20min；
Cpr：蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500 万；
10^3：1umol/mL=10^3 nmoL/mL。

六、注意事项

1、 标准曲线线性范围为：0.01μmoL/mL -2μmoL/mL
2、 ΔA 线性范围为：0.01 -1。
3、 若血清样本量不够，需将样本用生理盐水或 PBS 缓冲液稀释适当倍数，再进行实验操作，计算公式中乘以相应稀释倍数。