

谷丙转氨酶/丙氨酸氨基转氨酶(GPT/ALT)试剂盒说明书

货号: BN72246 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、产品简介:

丙氨酸氨基转氨酶, 旧称谷丙转氨酶, 缩写为 ALT 或 GPT (EC 2.6.1.2) 广泛存在于动植物、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。

谷丙转氨酶/丙氨酸氨基转氨酶(GPT/ALT)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, 而且与丙酮酸反应形成丙酮酸二硝基苯腙, 在碱性溶液中显棕红色。通过在 520nm 读取吸光值并计算出该酶活力大小。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 4mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 4mL×1 瓶	4℃保存
试剂三	液体 40mL×1 瓶	4℃保存
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、可调式移液器、研钵。

四、谷丙转氨酶/丙氨酸氨基转氨酶(GPT/ALT)活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量(g):试剂一体积(mL)为 1:5~10 的比例提取。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取 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 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为 500~1000:1 的比例提取。

③ 血清 (浆) 样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机测定:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 520nm。

② 可先做 2 个样本预测定, 熟悉操作过程, 并依据测出的吸光值 A 是否超出标准曲线的线性范围来做调整。

③ 所有试剂可于 37℃孵育 5-10min, 在 96 孔板中依次加入:

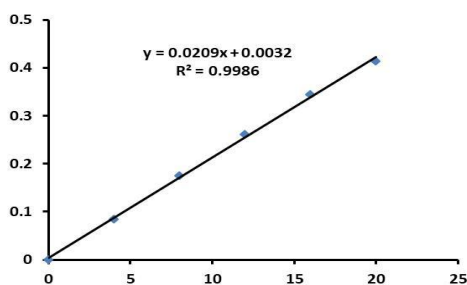
试剂名称 (μ L)	测定管	对照管
样本	10	
试剂一	20	20

混匀，于 37℃ 孵育 30min		
试剂二	20	20
样本		10
混匀，于 37℃ 孵育 10min		
试剂三	200	200
混匀，25℃ 孵育 10min，于 520nm 处测定吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0209x + 0.0032$ ，x 为标准品摩尔质量（nmol）；y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1 nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPT/ALT}(\text{nmol/min/mg prot}) = [(\Delta A - 0.0032) \div 0.0209] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 159.5 \times (\Delta A - 0.0032) \div \text{Cpr}$$

3、按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPT/ALT}(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [(\Delta A - 0.0032) \div 0.0209] \div (W \times V1 \div V) \div T = 159.5 \times (\Delta A - 0.0032) \div W$$

4、按细菌或细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPT/ALT}(\text{nmol/min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A - 0.0032) \div 0.0209] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.32 \times (\Delta A - 0.0032)$$

5、血清（浆）活力计算

酶活定义：每毫升血清（浆）每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPT/ALT}(\text{nmol/min/mL}) = [(\Delta A - 0.0032) \div 0.0209] \div V1 \div T = 159.5 \times (\Delta A - 0.0032)$$

V---提取液体积，1 mL；

V1---反应体系中样本体积，0.01mL；

T---反应时间，30 min；

W---样本质量，g；

500---细胞或细菌总数，万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。