



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyyysw@sina.com

丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性检测试剂盒 分光法 Alanine Aminotransferase Activity Assay Kit

产品编号	产品名称	规格
R43097	丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性检测试剂盒 分光法	48T

产品简介:

丙氨酸氨基转移酶, 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。哺乳动物肝细胞内的 ALT 浓度远高于血清, 当肝细胞坏死, ALT 释放到血液中, 血清 ALT 活性显著增高。因此, ALT 被世界卫生组织推荐为肝功能损害最敏感的检测指标。

本产品的检测原理是 ALT 催化丙氨酸与 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。

该试剂盒仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	6mL×1 瓶	4℃保存 避光	
试剂二	6mL×1 瓶	4℃保存 避光	
试剂三	60mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉末×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

操作步骤(仅供参考):

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1、组织样本:

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



【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例进行提取。

2、细菌/细胞样本：

- 收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 取约 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液；超声波破碎细菌或细胞（冰浴，200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；
- 12000rpm 4℃离心 10min 后取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1ml 提取液体积的比例进行提取。

3、血清（浆）样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

二、样品测定：

- 可见分光光度计预热 30min，调节波长至 520nm，蒸馏水调零。
- 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。
- 所有试剂可于 37℃孵育 5-10min，在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	20	-
试剂一	60	60
混匀，于 37℃孵育 30min		
试剂二	60	60
样本	-	20
混匀，于 37℃孵育 10min		
试剂三	600	600
混匀，25℃孵育 10min，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，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】：1.若 A 测定超过 1.5，可降低样本量 V1（如 10μL），试剂一相应增加，则改变后的加样体积 V1 需代入计算公式重新计算。

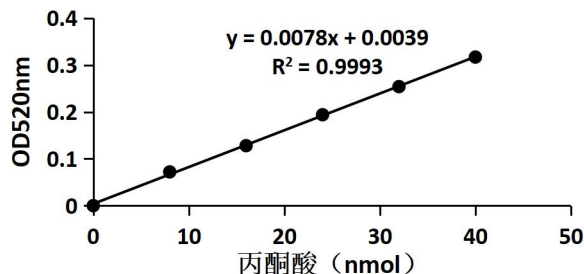
2.若 ΔA 的值在零附近徘徊，则可增加样本量 V1（如 30μL，则试剂一相应减少），或增加样本取样质量（W），则改变后的加样体积 V1 和取样质量 W 需代入计算公式重新计算。

三、结果计算：



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

1、标准曲线: $y = 0.0078x + 0.0039$, x 为标准品摩尔质量 (nmol), y 是 ΔA 。



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。

$$\begin{aligned} \text{GPT/ALT}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A - 0.0039) \div 0.0078] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \\ &= 213.68 \times (\Delta A - 0.0039) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

3、按样本鲜重计算:

酶活定义: 每克组织每分钟催化产生 1 nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GPT/ALT}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A - 0.0039) \div 0.0078] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 213.68 \times (\Delta A - 0.0039) \div W \end{aligned}$$

4、按细菌或细胞数量计算:

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

$$\begin{aligned} \text{GPT/ALT}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A - 0.0039) \div 0.0078] \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ &= 0.427 \times (\Delta A - 0.0039) \end{aligned}$$

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 1 nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GPT/ALT}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) &= [(\Delta A - 0.0039) \div 0.0078] \div V1 \div T \\ &= 213.68 \times (\Delta A - 0.0039) \end{aligned}$$

V---加入提取液体积, 1 mL

V1---加入样本体积, 0.02mL

T---反应时间, 30 min

W---样品质量, g

500---细胞或细菌总数, 万

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

附: 标准曲线制作过程:

1. 制备标准品母液 (20 $\mu\text{mol}/\text{mL}$): 加 1mL 蒸馏水溶解标准品, 充分混匀。
2. 把母液稀释成以下浓度: 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 。也可根据实际调整浓度。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

3. 20 μ L 标准品+10 μ L 试剂一+60 μ L 试剂二+60 μ L 试剂三, 混匀, 于 37°C 孵育 10min;
再加 600 μ L 试剂四, 混匀, 25°C 孵育 10min, 于 520nm 处测定吸光值 A, 依据结果即可
制作标准曲线。

注意事项:

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 2、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。
- 3、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

低温运输, 4°C 保存, 6 个月有效。

