



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: 3008007435@qq.com

## 谷丙转氨酶/丙氨酸氨基转氨酶(GPT/ALT)试剂盒

可见分光光度法

货号: R43908-48S

有效期: 6个月

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(EC2.6.1.2) 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 $\alpha$ -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。

试剂盒组成和配制:

| 试剂名称 | 规格        | 保存要求 |
|------|-----------|------|
| 提取液  | 液体60mL×1瓶 | 4℃保存 |
| 试剂一  | 液体5mL×1支  | 4℃保存 |
| 试剂二  | 液体6mL×1瓶  | 4℃保存 |
| 试剂三  | 液体6mL×1瓶  | 4℃保存 |
| 试剂四  | 液体60mL×1瓶 | 4℃保存 |
| 标准品  | 粉体mg×1支   | 4℃保存 |

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、可调式移液器、研钵。

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可见分光光度计预热30min 以上，调节波长至520nm, 蒸馏水调零。

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EP管中依次加入：

| 试剂名称(μL)       | 测定管 | 对照管 |
|----------------|-----|-----|
| 样本             | 20  |     |
| 试剂一            | 10  | 10  |
| 试剂二            | 60  | 60  |
| 混匀，于37℃孵育30min |     |     |
| 试剂三            | 60  | 60  |
| 样本             |     | 20  |
| 混匀，于37℃孵育10min |     |     |



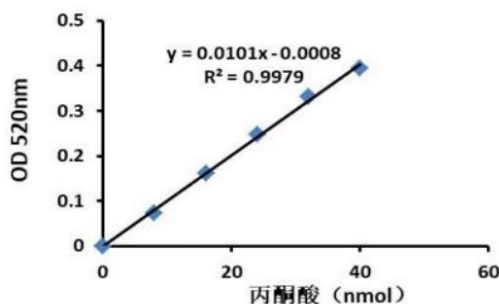
|                                                                                                           |     |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 试剂四                                                                                                       | 600 | 600 |
| 混匀, 25℃孵育10min,全部液体转移至1mL玻璃比色皿中, 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10 $\mu$ L), 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 $\Delta A$  的值在零附近徘徊, 则可增加样本量V1 (如30 $\mu$ L, 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。

### 结果计算：

1、标准曲线方程:  $y = 0.0101x - 0.0008$ , x 为标准品摩尔质量 (nmol); y 是 $\Delta A$ 。



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1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GPT/ALT (nmol/min/mg prot)} &= [(\Delta A + 0.0008) \div 0.0101] \div (V1 \times Cpr) \div T \\ &= 165.02 \times (\Delta A + 0.0008) \div Cpr \end{aligned}$$

3、按样本鲜重计算:

酶活定义: 每克组织每分钟催化产生1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GPT/ALT (nmol/min/g鲜重)} &= [(\Delta A + 0.0008) \div 0.0101] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 165.02 \times (\Delta A + 0.0008) \div W \end{aligned}$$

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。

$$\text{GPT/ALT}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell})=[(\Delta A+0.0008)\div 0.0101]\div(500\times V1\div V)\div T$$
$$=0.33\times(\Delta A+0.0008)$$

#### 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。

$$\text{GPT/ALT}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL})=[(\Delta A+0.0008)\div 0.0101]\div V1\div T$$
$$=165.02\times(\Delta A+0.0008)$$

V---提取液体积, 1mL;

V1--- 反应体系中样本体积, 0.02mL;

T---反应时间, 30 min;

W---样本质量, g;

50---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。

附: 标准曲线制作过程:

1.制备标准品母液(20μmol/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: 0,0.4,0.8,1.2,1.6,2μmol/mL。也可根据实际来调整浓度。

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