



谷丙转氨酶（ALT/GPT）测试盒说明书

（货号:C009-1-1 比色法 100管/50样）

一、测定原理：

谷丙转氨酶（ALT）在 37℃ 及 PH7.4 条件下，作用于丙氨酸及 α-酮戊二酸组成的底物，生成丙酮酸及谷氨酸。反应 30min 后加入 2,4-二硝基苯肼（DNPH）盐酸溶液，既中止反应，同时 DNPH 与酮酸中羰基反应，生成丙酮酸苯腙。苯腙在碱性条件下呈红棕色，于 505nm 处比色再通过标曲可计算酶活力。

二、试剂盒组成与试剂配制：（试剂盒有效期 6 个月）

试剂一：基质液，50mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂二：显色剂，50mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂三：浓缩终止剂，50mL×1 瓶，室温密封保存；临用时按 1：9 的比例加蒸馏水（10 倍）稀释配成终止剂，需多少配多少，室温密封保存。

试剂四：丙酮酸钠标准液×1 支，4℃ 保存；

试剂五：磷酸盐缓冲液×1 支，4℃ 保存。

三、所需仪器及试剂：

可见分光光度计及 1cm 光径比色皿，37℃ 水浴锅，涡旋混匀器，蒸馏水，蛋白测定试剂（组织或细胞样本用，本公司有售）。

四、操作过程：

1、样本前处理：

①、血清（浆）及其它液体样本待测：直接取样测定。

②、动物组织样本：准确称取组织重量，按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例，加入 9 倍体积的生理盐水，冰水浴条件下机械匀浆，制成 10% 的组织匀浆，4000 转/分，4℃ 离心 10 分钟，取上清液置于冰上备用，上清液用生理盐水稀释到适宜浓度后用。（另取部分上清液测其蛋白浓度）

③、细胞样本前处理：将收集好的细胞用等渗缓冲液（推荐用 0.01mol/L pH7~7.4 磷酸盐缓冲液）清洗 1~2 次；1000 转/分，离心 10 分钟，弃上清，留细胞沉淀，加入匀浆介质（推荐用 0.01mol/L pH7~7.4 磷酸盐缓冲液或生理盐水），冰水浴条件下超声破碎或手动匀浆，4000 转/分，4℃ 离心 10 分钟，取上清液置于冰上待测。（另取部分上清液测其蛋白浓度）

注：预实验以样本 ΔA 值在标曲范围内（中间位置最佳）或在 0.2 左右对应的浓度为宜。血清（浆）、培养液等一般原液测定，肝组织匀浆一般需要再稀释 10-50 倍后测定，细胞匀浆一般也是原液测定。

2、操作步骤：（试剂一提前 5 分钟 37℃ 预温）

	测定管	对照管
待测样本（mL）	0.1	0.1
试剂一（mL）	0.5	0.5
混匀，对照管立即加试剂二，测定管 37℃ 水浴 30 分钟后加试剂二		
试剂二（mL）	0.5	0.5
混匀，37℃ 水浴 20 分钟		
终止剂（mL）	5	5
混匀，室温放置 10 分钟，505nm 波长，1cm 光径，蒸馏水调零，分光光度计测各管 OD 值 A，以（绝对 OD 值（ΔA）=A 测定-A 对照），代入标准曲线得卡门氏单位，再代入计算公式求得相应的 ALT/GPT 活力		

3、计算公式：

血清（浆）GPT 活力 (U/L) = 代入标曲计算得值 (卡门氏单位) × 0.482 × N

组织、细胞中 GPT 活力 (U/g 蛋白) = 代入标曲计算得值 (卡门氏单位) × 0.482 × N ÷ Cpr

Cpr: 匀浆液蛋白浓度，g/L；N：样本测试前稀释倍数。

五、注意事项：

1、比色法中常用的有赖氏（Reitman-Frankel）法及金氏（King）法。赖氏法标准曲线所定单位数，是用实验方法和卡门氏分光光度法（速率法）作对比测定求得的。以卡门氏单位报告结果，比较准确。卡门氏单位定义为：1mL 血清，反应液总容量 3mL，波长 340nm，1cm 光径，25℃，1min 内所生成的丙酮酸，使 NADH 氧化成 NAD⁺而引起吸光度每下降 0.001 为一个单位（1 卡门氏单位 = 0.482 U/L，25℃）。

2、建议对测得活力单位超过正常尤其是在临界时，进行复测；复测时每份标本均做对照管。

3、酶活力超过 150 单位时，用生理盐水稀释后重测。

4、应将一般血清的对照管（或称标本空白管）的吸光度作为日常质控的指标之一；如相差大，可考虑 α-酮戊二酸浓度、DNPH 浓度及仪器等原因引起。

5、血清中 ALT 在室温（25℃）可保存 2 天，在 4℃ 可保存一周，在 -25℃ 可保存 1 个月。

6、读吸光值时也可用酶标仪（每管吸 200μL 到 96 孔板中读数），且标准曲线做完也需用酶标仪读数才行，否则偏差较大。

附录：ALT/GPT 标准曲线制备

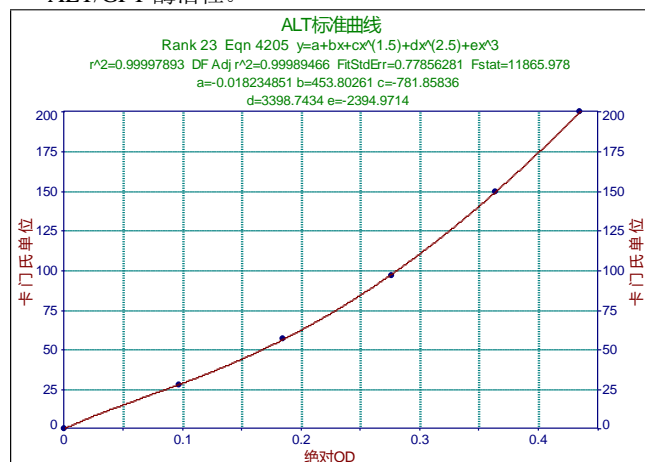
1、操作表：

	0	1	2	3	4	5
试剂五（mL）	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
丙酮酸钠标准液（mL）	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
试剂一（mL）	0.50	0.45	0.40	0.35	0.30	0.25
试剂二（mL）	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
混匀，37℃ 水浴 20 分钟						
终止剂（mL）	5	5	5	5	5	5
室温放置 10 分钟，505nm 波长，1cm 光径，蒸馏水调零，分光光度计测各管吸光度值 A。						

2、测定结果(参考)：

管号	0	1	2	3	4	5
酶活力卡门氏单位值	0	28	57	97	150	200
吸光度值	0.267	0.364	0.452	0.543	0.631	0.702
绝对吸光度值	0	0.097	0.185	0.276	0.364	0.435

3、以各标准管吸光度值减去零管吸光度值，所得差值（绝对 OD 值）为横坐标，相应的卡门氏单位值为纵坐标，作坐标图并拟合公式，直接在 Excel 表中用公式计算样本中的 ALT/GPT 酶活性。



【注】：标准曲线需要客户自己制作才更准确，操作步骤参照上表；上表所列的卡门氏单位数值与各标准孔的标准品加样量是对应的，所以该值固定不变，客户可以由此值和自己按操作表求得的各标准管的吸光值作多项式曲线（R² ≥ 0.99），得到计算公式用于样本计算。