谷丙转氨酶（GPT/ALT）活性检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。
2. 正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本上清进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。
4. 为降低误差，请在加入试剂一后确保混匀。
5. 当测定管 OD 值大于 0.8 时，请用提取液将上清稀释至 OD 值小于 0.8。注意在计算公式中乘以相应稀释倍数。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	105 mL×1	4℃	
试剂一	5.5 mL×1	4℃	
试剂二	5.5 mL×1	4℃避光	
试剂三	50 mL×1	4℃	
标准品	1 mL×1	4℃	20 μmol/mL 标准溶液，若重新做标曲则用到该试剂，标准系列溶液按照与待测样本相同的操作步骤同步测定。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰。

四、样品制备

1. 血清、血浆、培养液等液体样品：直接检测。
2. 细菌或细胞样品的制备：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 1 mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次）；8000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。
3. 组织样品的制备：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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，8000g ，4℃离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 505 nm 处。

2. 在 96 孔板中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管
待测样本（μL）	5	-	-
试剂一（μL）	25	25	-
标准品（μL）	-	-	30
混匀后，37℃反应 30 min			
试剂二（μL）	25	25	25
待测样本（μL）	-	5	-
混匀后，37℃反应 20 min			
试剂三	240	240	240
充分混匀，室温放置 10 min，测定 505 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准、A 空白。ΔA 测定= A 测定-A 对照，ΔA 标准= A 标准-A 空白。每个测定管需设置一个对照管，标准曲线只需做 1~2 次。			

六、计算：

标准条件下测定的回归曲线，y = 0.9858x + 0.0059，（x 为标准品浓度，μmol/mL；y 为ΔA）。

1. 血清（浆）中谷丙转氨酶活性计算：

谷丙转氨酶活性（μmol/mL）＝（ΔA-0.0059）÷0.9858×（V 样本+V 试剂一）÷V 样本÷T=12.17×（ΔA-0.0059）

2. 细菌、细胞或组织中谷丙转氨酶活性计算

（1）按照蛋白浓度计算（需要另外测定)

谷丙转氨酶活性（μmol/mg prot）=（ΔA-0.0059）÷0.9858×（V 样本+V 试剂一）÷（Cpr×V 样本）÷T=12.17×（ΔA-0.0059）÷Cpr

（2）按照样本质量计算

谷丙转氨酶活性（μmol/g 鲜重）=（ΔA-0.0059）÷0.9858×（V 样本+V 试剂一）

÷（Cpr×V 样本）÷T= 12.17×（ΔA-0.0059）÷W

（3）按照细菌或细胞密度计算：

谷丙转氨酶活性（μmol/10^4）=（ΔA-0.002）÷0.9858×（V 样本+V 试剂一）÷（细胞数量（万个）×V 样本÷V 样总）=12.17×（ΔA-0.0059）÷细胞数量 （万个）

V 样本：样本体积，0.005mL；V 试剂一：试剂一体积，0.025 mL；V 样总：提取液体积，1 mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；T：反应时间，0.5 h。

七、产品简介

谷丙转氨酶广泛存在于动物、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。