

## Alanine Aminotransferase Activity Assay Kit

### 丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1409B	丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性检测试剂盒 微板法	96T

#### 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 $\alpha$ -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。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	液体 4mL×1 支	4°C保存
试剂二	液体 4mL×1 瓶	4°C保存
试剂三	液体 40mL×1 瓶	4°C保存
标准品	粉末×1 支	4°C保存

#### 使用方法:

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. 组织样本准备:

- 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 12000rpm 4°C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. 细胞/细菌样本准备:

- 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- 取约  $5 \times 10^6$  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°C离心 10min 后取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

###### 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:

- 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 520nm。
- 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°C 孵育 5-10min, 在 96 孔板中依次加入:

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



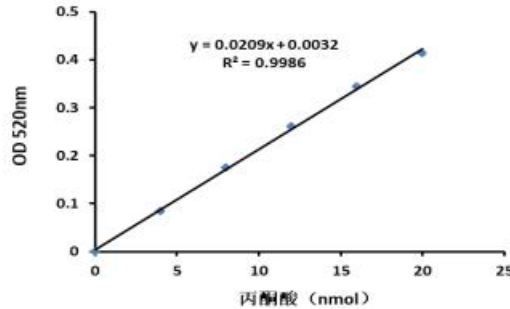
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	10	-
试剂一	20	20
混匀, 于 37°C 孵育 30min		
试剂二	20	20
样本	-	10
混匀, 于 37°C 孵育 10min		
试剂三	200	200
混匀, 25°C 孵育 10min, 于 520nm 处测定吸光值 A, ΔA=A 测定-A 对照 (每个样本做一个自身对照)。		

【注】1.若 A 测定超过 1.2, 可降低样本量 V1 (如 5μL, 另外 5μL 用蒸馏水补齐, 总体积 10μL 保持不变)。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 15μL, 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、含量计算

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。



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。

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

3. 按样本鲜重计算:

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

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

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 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

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

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 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

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

V---加入提取液体积, 1 mL

V1---加入样本体积, 0.01mL

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

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。





附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（ $20\mu\text{mol/mL}$ ）：加  $1\text{mL}$  蒸馏水溶解标准品，充分混匀。
2. 把母液稀释成以下浓度： $0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际来调整浓度。
3.  $10\mu\text{L}$  标准品+ $20\mu\text{L}$  试剂一+ $20\mu\text{L}$  试剂二，混匀，于  $37^\circ\text{C}$  孵育  $10\text{min}$ ；再加  $200\mu\text{L}$  试剂三，混匀， $25^\circ\text{C}$  孵育  $10\text{min}$ ，于  $520\text{nm}$  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、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：

$4^\circ\text{C}$  保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

电话：400-600-4213

邮箱：techserv@labgic.com

