



# 谷丙转氨酶（ALT/GPT）测试盒说明书(精简版)

(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（固定时间）加入 2,4-二硝基苯肼（DNPH）盐酸溶液，既中止反应，同时 DNPH 与酮酸中羰基加成，生成丙酮酸苯腙。苯腙在碱性条件下呈红棕色，于 505nm 比读吸光度并计算酶活力。

## 二、试剂的组成与配制：(试剂盒有效期 6 个月)

试剂一:谷丙转氨酶基质液，50mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂二:2,4—二硝基苯肼液，50mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂三:4mol/L 氢氧化钠液，50mL×1 瓶，室温密封保存；**0.4mol/L 氢氧化钠液**的配制：临时时按 4mol/L 氢氧化钠液：双蒸水=1：9 的比例稀释，需多少配多少，室温密封保存。

试剂四:2μmol/mL 丙酮酸钠标准液 1 支，4℃ 保存；

试剂五:0.1mol/L 磷酸盐缓冲液 1 支，4℃ 保存。

## 三、所需仪器及试剂：

可调 505nm 波长的可见光分光光度计及 1cm 光径比色皿，蒸馏水，涡旋混匀器，37℃ 水浴锅或恒温箱，蛋白测定试剂（动物组织用，本公司有售）。

## 四、操作过程：

### 1、血清及细胞培养液的测定：可直接取样进行测定。

|                                                                                           | 测定管 | 对照管 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 待测样本（mL）                                                                                  | 0.1 |     |
| 基质液（mL）37℃ 已预温 5 分钟                                                                       | 0.5 | 0.5 |
| 混匀后，37℃ 水浴 30 分钟                                                                          |     |     |
| 2, 4—二硝基苯肼液（mL）                                                                           | 0.5 | 0.5 |
| 待测样本（mL）                                                                                  |     | 0.1 |
| 混匀后，37℃ 水浴 20 分钟                                                                          |     |     |
| 0.4mol/L 氢氧化钠液（mL）                                                                        | 5   | 5   |
| 混匀，室温放置 5 分钟，505nm 波长，双蒸水调零，测各管 OD 值，以（绝对 OD 值=测定管 OD 值减去对照管 OD 值），查标准曲线，求得相应的 ALT/GPT 活力 |     |     |

### 2、肝脏组织的测定：

①、**样本前处理**：准确称取组织重量，按重量(g):体积=1:9 的比例，加入 9 倍体积的生理盐水，冰水条件下机械匀浆，制备成 10% 的组织匀浆，2500 转/分，离心 10 分钟，取上清液，再用生理盐水 10 倍稀释成 1% 的浓度待测。（同时取部分上清液测蛋白浓度，蛋白定量试剂盒本所有售）

#### ②、操作表：

|                                                                                            | 测定管 | 对照管 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 待测样本（mL）                                                                                   | 0.1 |     |
| 基质液（mL）37℃ 已预温 5 分钟                                                                        | 0.5 | 0.5 |
| 混匀后，37℃ 水浴 30 分钟                                                                           |     |     |
| 2, 4—二硝基苯肼液（mL）                                                                            | 0.5 | 0.5 |
| 待测样本（mL）                                                                                   |     | 0.1 |
| 混匀后，37℃ 水浴 20 分钟                                                                           |     |     |
| 0.4mol/L 氢氧化钠液（mL）                                                                         | 5   | 5   |
| 混匀，室温放置 5 分钟，505nm 波长，双蒸水调零，测各管 OD 值，以（绝对 OD 值=测定管 OD 值减去对照管 OD 值），查标准曲线，求得相应的 ALT/GPT 活力。 |     |     |

#### ③、计算公式：

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

组织中 GPT 活力 = 代入标曲计算得到的值 × 0.482 ÷ Cpr  
（U/gprot）（卡门氏单位）

Cpr: 组织匀浆蛋白浓度，gprot/L（prot 指蛋白）

## 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<sup>+</sup>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、一般血清标本内源性丙酮酸很少，个体相差也不大，作大批标本测定时，不需每份标本都作对照管，严重脂血、黄疸、溶血及陈旧血清须作自身对照管。建议对活力单位超过正常尤其是在临界时，进行复测；复测时每份标本均作对照管。
- 3、酶活力超过 150 单位时，用盐水稀释血清后重测。
- 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。

## 附录 I：ALT 标准曲线

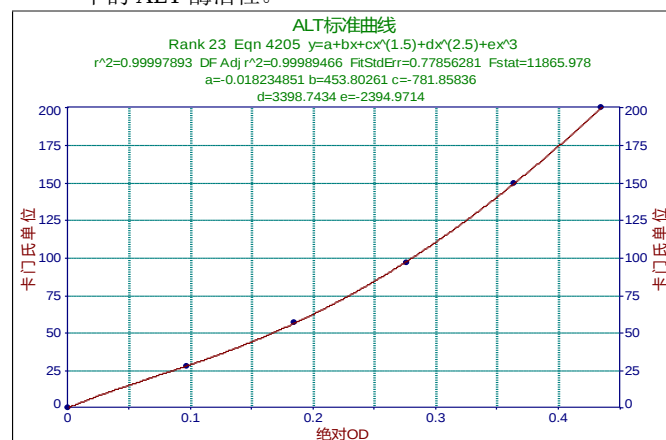
### 1、操作表：

|                                                                           | 0    | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    |
|---------------------------------------------------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| 0.1mol/L 磷酸缓冲液（mL）                                                        | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| 2μmol/mL 丙酮酸钠标准液（mL）                                                      | 0    | 0.05 | 0.10 | 0.15 | 0.20 | 0.25 |
| 基质缓冲液（mL）                                                                 | 0.50 | 0.45 | 0.40 | 0.35 | 0.30 | 0.25 |
| 2,4—二硝基苯肼液（mL）                                                            | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 |
| 混匀后，37℃ 水浴 20 分钟                                                          |      |      |      |      |      |      |
| 0.4mol/L 氢氧化钠液（mL）                                                        | 5    | 5    | 5    | 5    | 5    | 5    |
| 室温放置 10 分钟，505nm 波长，双蒸水调零，测各管吸光度，各管吸光度减去零管吸光度，所得差值为纵坐标，相应的卡门氏单位为横坐标，作坐标图。 |      |      |      |      |      |      |

### 2、测定结果(附参考标准曲线)：

|             |       |       |       |       |       |       |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 本所实验的吸光度值   | 0.267 | 0.364 | 0.452 | 0.543 | 0.631 | 0.702 |
| 本所实验的绝对吸光度值 | 0     | 0.097 | 0.185 | 0.276 | 0.364 | 0.435 |
| 相当于酶活力卡门氏单位 | 0     | 28    | 57    | 97    | 150   | 200   |

**[注]：**为方便计算，以各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 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孔的吸光值作多项式曲线（R<sup>2</sup>≥0.99），得到计算公式用于样本计算。

