

谷丙转氨酶（ALT/GPT）测试盒

赖氏法 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：

试剂一：谷丙转氨酶基质液,50ml×1 瓶，4℃冰箱保存 6 个月；

试剂二：显色液，50ml×1 瓶，4℃冰箱保存 6 个月；

试剂三：浓缩终止液，50ml×1 瓶，室温密封保存 6 个月；

应用终止液的配制：临用时按浓缩终止液:双蒸水=1：9 的比例稀释，室温密封保存。

试剂四：2 mol/ml 标准液 1 支，4℃冰箱保存 6 个月；

试剂五：0.1mol/L 缓冲液 1 支，4℃冰箱保存 6 个月。

三、操作过程：

1、**样本前处理：**样本处理详见说明书或本公司官网-技术文章部分关于样本处理的说明。测定组织和细胞同时需要测定蛋白浓度。可用总蛋白定量测试盒（考马斯亮蓝法）或者总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

2、操作表：

	测定管	对照管
待测样本（ml）	0.05	
基质液（ml）37℃已预温 5 分钟	0.25	0.25
混匀后，37℃水浴 30 分钟		
显色液（ml）	0.25	0.25
待测样本（ml）		0.05
混匀后，37℃水浴 20 分钟		
应用终止液（ml）	2.5	2.5
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 活力值。		

四、计算公式：

1、**血清(浆)计算：**血清（浆）样本中 GPT 活力通过代入标准曲线直接计算得到。

2、组织样本计算：

组织中 *GPT* 活力 = 通过标准曲线得 ÷ 待测匀浆液蛋白
(*U / gprot*) 匀浆液 *GPT* 活力(*U/L*) 浓度(*gprot / L*)