

## 丙氨酸氨基转移酶（ALT）检测试剂盒（赖氏微板法）

产品货号：BA1560

产品规格：100T

### 产品简介：

转氨酶是催化 $\alpha$ -氨基酸和 $\alpha$ -酮酸之间氨基转换反应的一组酶，丙氨酸氨基转移酶(ALT)旧称谷丙转氨酶(GPT)主要存在于肝细胞浆内，细胞内ALT浓度远高于血清，肝细胞破坏后血清ALT立即迅速升高，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。

乐业丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂盒(赖氏微板法)其检测原理是ALT催化丙氨酸与 $\alpha$ -酮戊二酸之间的氨基转移反应，其反应公式如下： $L\text{-丙氨酸} + \alpha\text{-酮戊二酸} \rightarrow \text{丙酮酸} + L\text{-谷氨酸}$ 。

二硝基苯胍与 $\alpha$ -酮酸反应生成相应的二硝基苯腙，在碱性条件下二硝基苯腙的吸收光谱有差异，酶标仪检测在500~520nm处差异最大，以等摩尔浓度计算出丙酮酸的生成量，进而计算酶的活性。100T该检测试剂盒可检测50个样本(不含标准品)，该试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成

名称	100T	保存条件
试剂(A): 丙酮酸标准	22mg	室温
试剂(B): 丙酮酸标准稀释液	5ml	室温
试剂(C): 标准对照液	2ml	4℃
试剂(D): ALT Assay Buffer	3ml	4℃，避光
试剂(E): 苯胍显色液	3ml	4℃，避光
试剂(F): ALT显色基液	25ml	室温

### 自备材料：

1. 蒸馏水
2. 离心管
3. 水浴锅或恒温箱
4. 96孔板、酶标仪

### 操作步骤 (仅供参考)：

#### 1. 准备样品：

①血浆、血清样品：血浆、血清按照常规方法制备，可以直接用于本试剂盒的测定，-20℃保存1个月有效，用于ALT/GPT的检测。

②细胞或组织样品：取恰当细胞或组织进行匀浆，低速离心取上清，-20℃保存1个月有效，用于ALT/GPT的检测。

③(选做)样品准备完毕后可以用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的ALT/GPT含量。

2. 制作ALT标准曲线：取丙酮酸标准1支，准确加入丙酮酸标准稀释液1ml，充分混匀，即配制成丙酮酸标准(100mmol/L)，4℃保存备用。临用前，按丙酮酸标准(100mmol/L)：丙酮酸标准稀释液=1：49的比例混合，即为丙酮酸标准工作液-丙酮酸标准(2mmol/L)，以96孔板，按下表制备标准曲线，最好设定平行检测管，求平均值。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

加入物(μl)	0	1	2	3	4
丙酮酸标准(2mmol/L)	0	2	4	6	8
标准对照液	4	4	4	4	4
ALT Assay Buffer(37℃提前孵育5min)	20	18	16	14	12
相当于ALT/GPT(卡门单位)	0	28	57	97	150

混匀，向各管中加入苯肼显色液0.2ml，混匀，37℃孵育20min，加入ALT显色基液200ul，混匀。室温放置5min，以蒸馏水调零，酶标仪505nm处读取各管吸光度。各管吸光度均减去“0”号管吸光度，所得吸光度差值(纵坐标)与对应的卡门酶活力单位(横坐标)作图。注意：乐业标准品用分光光度计检测参考值在0.3~0.9之间，加入ALT显色基液后其颜色依次为黄色至棕红色，应及时检测，随着时间的延长其颜色会加深，由于检测仪器、操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动。

3. ALT加样：按照下表设置对照管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的ALT酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。

加入物(μl)	对照孔	测定孔
待测样品(如血清等)	4	4
ALT Assay Buffer(37℃提前孵育5min)	-	20
混匀，37℃孵育30min。		
ALT Assay Buffer(37℃提前孵育5min)	20	-
苯肼显色液	20	20
混匀，37℃孵育20min。		
ALT显色基液	200	200

4. ALT测定：混匀，室温放置5min，以蒸馏水调零，分光光度计505nm处测定对照管、测定管的吸光度(即为A对照、A测定)，如无505nm可选择500~520nm。

#### 计算：

以系列标准管活力卡门单位为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，以(A<sub>测定</sub> - A<sub>对照</sub>)之差值，从标准曲线查得ALT活力卡门单位。

**参考范围：** 成年健康人血清ALT：5~25卡门单位/ml

#### 注意事项：

1. 苯肼显色液溶解以后，如果仍然有结晶析出，应过滤后使用或弃用。
2. 由于赖氏法的特点，在绘制标准曲线时每个点最好做3管的重复测定，求出各标准管的吸光度均值，减去“0”号管吸光度均值，对照赖氏单位绘制标准曲线。
3. 血清中ALT活性在室温可以保存2天，4℃保存1周，-20℃保存1个月。
4. 成批样本测定时一般无需每份样本都做自身血清对照，以试剂空白管代替即可。
5. 对于超过正常范围的血清样本，应该进行复测，复测时每份样本都应做自身血清对照。
6. 严重黄疸、脂血或溶血的血清，可能会引起测定管吸光度增高，因此检测该类样本时应做自身血清标本对照。
7. 样本的酶活力大于150卡门单位时，应将样本进行5~10倍稀释后再行测定。

**有效期：** 6个月有效。4℃运输，4℃保存。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com