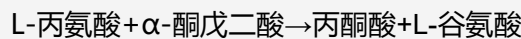


丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂盒(赖氏微板法)

产品简介:

转氨酶是催化 α -氨基酸和 α -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, 因此谷 ALT 被世界卫生组织推荐为肝功能损害最敏感的检测指标。

Leagene 丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂盒(赖氏比色法)其检测原理是 ALT 催化丙氨酸与 α -酮戊二酸之间的氨基转移反应, 其反应公式如下:



二硝基苯肼与 α -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	编号	TE0121 100T	Storage
试剂(A): 丙酮酸标准		22mg	RT
试剂(B): 丙酮酸标准稀释液		5ml	RT
试剂(C): 标准对照液		2ml	4°C
试剂(D): ALT Assay buffer		3ml	4°C 避光
试剂(E): 苯肼显色液		3ml	4°C 避光
试剂(F): ALT 显色基液(5 \times)		5ml	RT
使用说明书			1 份

自备材料:

- 1、蒸馏水或去离子水
- 2、离心管、水浴锅或恒温箱、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°C 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°C 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、配制 ALT 显色基液(1×)：取 AST 显色基液(5×)一份加入蒸馏水 4 份稀释即可使用。
- 3、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，最好设定平行检测孔，求平均值。

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	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 20ul，混匀，37℃孵育 20min，加入 ALT 显色基液(1×)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。

- 4、ALT 加样：按照下表设置对照孔、测定孔，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	-	20
混匀，37℃孵育 30min。		
ALT Assay Buffer	20	-
苯肼显色液	20	20
混匀，37℃孵育 20min。		
ALT 显色基液(1×)	200	200

- 5、ALT 测定：混匀，室温放置 5min，以蒸馏水调零，酶标仪 505nm 处测定对照管、测定管的吸光度(即为 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$)，如无 505nm 可选择 500~520nm。

计算：以系列标准孔活力卡门单位为横坐标，以对应的吸光度(调零)为纵坐标，绘制标准曲线，以($A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$)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：

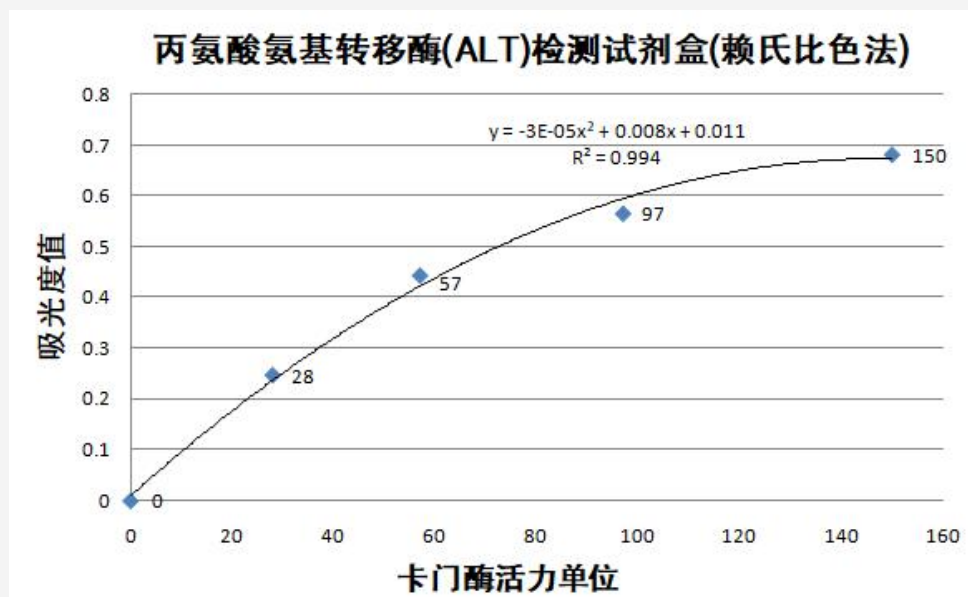
- 1、 苯肼显色液溶解以后，如果仍然有结晶析出，应过滤后使用或弃用。
- 2、 ALT 显色基液(5×)有一定腐蚀性，请小心操作。
- 3、 ALT Assay buffer 使用前应 37℃提前孵育 5min。
- 4、 由于赖氏法的特点，在绘制标准曲线时每个点最好做 3 管的重复测定，求出各标准管的吸光度均值，减去“0”号管吸光度均值，对照赖氏单位绘制标准曲线。
- 5、 血清中 ALT 活性在室温可以保存 2 天，4℃保存 1 周，-20℃保存 1 个月。
- 6、 成批样本测定时一般无需每份样本都做自身血清对照，以试剂空白管代替即可。
- 7、 对于超过正常范围的血清样本，应该进行复测，复测时每份样本都应做自身血清对照。
- 8、 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。
- 9、 当样本的酶活力大于 150 卡门单位时，应将样本进行 5~10 倍稀释后再行测定。
- 10、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 11、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6 个月有效。低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
CA0005	氨苄青霉素溶液(Ampicillin,50mg/ml)
DH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
DP0013	GUS 染色液(即用型)
DZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
NR0003	Lezol(总 RNA 提取试剂)
PE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
TC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)

附录：参考标准曲线范围：Leagene 通过分光光度计 505nm 测定不同丙酮酸标准浓度所对应的卡门单位其吸光度多在 0.2~0.9 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。Leagene 测定卡门单位为 0、28、57、97、150 对应的吸光度，据此作出其标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算 ALT 含量的，可以采用标准曲线进行多点重复测定；根据 Leagene 测定经验显示样品酶活力大于 150 卡门单位以上，标准曲线会有偏差。