



丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂盒(赖氏比色法)

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 ALT 被世界卫生组织推荐为肝功能损害最敏感的检测指标。

源叶生物 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, 通过分光光度计检测在 505nm 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。

组成:

名称	编号	R21814	Storage
试剂(A): 丙酮酸标准	100T	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		30ml	4°C 避光
试剂(E): 苯肼显色液		30ml	4°C 避光
试剂(F): ALT 显色基液(5×)		50ml	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
- 3、比色杯、分光光度计

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°C 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), 按下表制备标准曲线, 最好设定平行检测管, 求平均值。

加入物(ml)	0	1	2	3	4
丙酮酸标准(2mmol/L)	0	0.02	0.04	0.06	0.08
标准对照液	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
ALT Assay Buffer	0.2	0.18	0.16	0.14	0.12
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°C 孵育 20min, 加入 ALT 显色基液(1×)2ml, 混匀。室温放置 5min, 以蒸馏水调零, 分光光度计 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(ml)	对照管	测定管
待测样品(如血清等)	0.04	0.04
ALT Assay Buffer	—	0.2
混匀, 37℃ 孵育 30min。		
ALT Assay Buffer	0.2	—
苯肼显色液	0.2	0.2
混匀, 37℃ 孵育 20min。		
ALT 显色基液(1×)	2	2

5、ALT 测定: 混匀, 室温放置 5min, 比色杯光径 1cm, 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 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$)。

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($A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$)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。

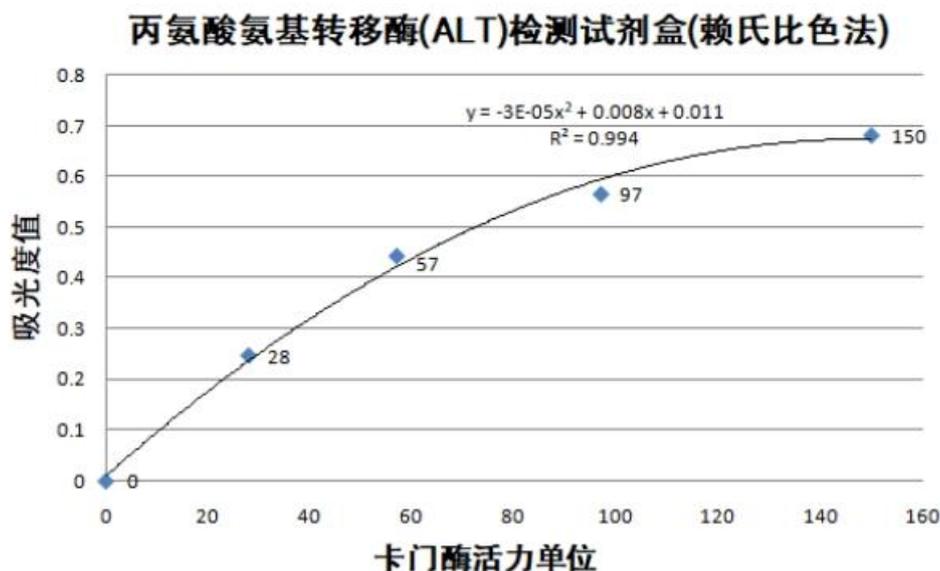
8、严重黄疸、脂血或溶血的血清，可能会引起测定管吸光度增高，因此检测该类样本时应做自身血清标本对照。

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。

有效期：6 个月有效。4℃ 运输，4℃ 保存。

附录：参考标准曲线范围：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。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。