

丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 检测试剂盒 (单试剂速率法)

产品货号: BA1562

产品规格: 100ml/200ml

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。

尚宝丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂盒(单试剂速率法)其检测原理是丙氨酸氨基转移酶催化丙氨酸与 α -酮戊二酸之间的氨基转移反应,丙酮酸与NADH经LDH催化生成NAD⁺,上述方法实际为ALT速率法,其反应公式如下: L-丙氨酸+ α -酮戊二酸 \rightarrow 丙酮酸+L-谷氨酸。丙酮酸+NADH+H⁺ \rightarrow L-乳酸+NAD⁺。

在上述偶联反应中NADPH的氧化速率与样本中酶活性呈正比。对于单试剂速率法,血清与试剂完整成分的底物溶液混匀,ALT催化反应立即启动,通过分光光度计或自动分析仪检测在340nm处吸光度下降速率(- Δ A/min),下降速率(- Δ A/min)与ALT活性呈正比,进而计算酶的活性单位。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	成分	终浓度	100ml	200ml	保存条件
	Tris缓冲液	100mM			
	L-丙氨酸	500mM			
ALT检测液(R)	酮戊二酸	15mM	2 \times 50ml	2 \times 100ml	4 $^{\circ}$ C, 避光
	NADH	0.18mM			
	LDH	1700U/L			
	防腐剂	15mM			

自备材料:

1. 蒸馏水
2. 比色杯
3. 分光光度计或自动分析仪

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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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. 分光光度计检测: 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。注意: 由于酶促反应时间极短,尚宝立即检测,加样时间越短越好,其反应基本在1~2min内,其后反应趋于平缓。尚宝对照检测参考值在1~3min变化为1.1~0.8之间。由于检测仪器、操作手法以及样品酶活性高低等条件的不同,参考值范围会有波动如果样品中的酶活性过高,可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。

加入物(μ l)	对照管	测定管
ALT检测液(R)	900	900
混匀, 37 $^{\circ}$ C 孵育30min		
蒸馏水	45	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

待测样品	-	45
混匀，37℃孵育60s，以空白调零，在340nm处1~3min各管吸光度变化，计算各管 $\Delta A/\text{min}$ 。		

对于量程比较大的比色杯，其加样量应相应增多，检测样本量则对应减少；对于量程比较小的比色杯，其加样量应相应减少，检测样本量则对应增加。

3. 生化分析仪检测：按照下表设置主要参数，如果样品中的酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。

波长	340nm
反应温度	37℃
孵育时间	90s
连续监测时间	60s
比色杯光径	1.0cm
系数	3376
待测样品	15 μl
ALT检测液(R)	300 μl

计算：

分光光度计计算公式： $\text{ALT(U/L)} = \Delta A / \text{min} \times (10^6 / 6220) \times (945 / 45) = \Delta A / \text{min} \times 3376$

式中：6220= NADH的吸光度

945=反应液的总体积(μl)

45=待测样品体积(μl)

生化分析仪计算公式： $\text{ALT(U/L)} = \Delta A / \text{min} \times (10^6 / 6220) \times (315 / 15) = \Delta A / \text{min} \times 3376$

式中： $\Delta A/\text{min}$ =测定的340nm吸光度的升高速率

6220= NADH的吸光度

315=反应液的总体积(μl)

15=待测样品体积(μl)

参考范围： 成年健康人血清ALT：0~40U/L

性能指标： 空白吸光度值 ≥ 1.0

空白测定值 $\leq 5\text{U/L}$

线性范围：0~1000U/L

批内 CV $< 6.0\%$

批间相对 CV $< 10\%$

灵敏度：10U/L

注意事项：

1. 抗坏血酸 $\leq 40\text{mg/dl}$ ，游离胆红素 $\leq 40\text{mg/dl}$ ，结合胆红素 $\leq 40\text{mg/dl}$ ，血红蛋白 $\leq 500\text{mg/dl}$ 对测定结果无影响。
2. 如果生化分析仪内无所要求波长的滤光片，应选择接近的滤光片。
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. 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。

有效期：6个月有效。4℃运输，4℃保存；打开包装以后，4℃保存1个月。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com