

## 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 $\alpha$ -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 $\alpha$ -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<sup>+</sup>，上述方法实际为ALT速率法，其反应公式如下： $L\text{-丙氨酸} + \alpha\text{-酮戊二酸} \rightarrow \text{丙酮酸} + L\text{-谷氨酸}$ 。 $\text{丙酮酸} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow L\text{-乳酸} + \text{NAD}^+$ 。

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(- $\Delta A/\text{min}$ )，下降速率(- $\Delta A/\text{min}$ )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
ALT检测液(R)	Tris缓冲液	100mM	2×50ml	2×100ml	4℃，避光
	L-丙氨酸	500mM			
	酮戊二酸	15mM			
	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℃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 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( $\mu\text{l}$ )	对照管	测定管
ALT检测液(R)	900	900
混匀，37℃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 $\mu\text{l}$
ALT检测液(R)	300 $\mu\text{l}$

#### 计算：

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

式中：6220= NADH的吸光度

945=反应液的总体积( $\mu\text{l}$ )

45=待测样品体积( $\mu\text{l}$ )

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

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( $\mu\text{l}$ )

15=待测样品体积( $\mu\text{l}$ )

**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 $\geq 1.0$

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