

## 丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂盒(单试剂速率法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 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。

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：



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		规格		保存温度
丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测试剂盒		100ml	200ml	4℃避光
ALT 检测液(R)	成分	终浓度		4℃避光
	Tris 缓冲液	100mM		
	L-丙氨酸	500mM		
	酮戊二酸	15mM	2× 50ml	
	NADH	0.18mM	2× 100ml	
	LDH	1700U/L		
	防腐剂	15mM		
使用说明书		1 份		
有效期		6 个月		

### 自备材料：

- 1、蒸馏水
- 2、比色杯、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,  $-20^{\circ}\text{C}$  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,  $-20^{\circ}\text{C}$  保 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、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, 建议立即检测, 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。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, $37^{\circ}\text{C}$ 孵育 30min。		
蒸馏水	45	—
待测样品	—	45
混匀, $37^{\circ}\text{C}$ 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	$37^{\circ}\text{C}$
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： $ALT(U/L) = \Delta A/min \times (106/6220) \times (945/45) = \Delta A/min \times 3376$

式中：6220=NADH 的吸光度

945=反应液的总体积( $\mu l$ )

45=待测样品体积( $\mu l$ )

生化分析仪计算公式： $ALT(U/L) = \Delta A/min \times (106/6220) \times (315/15) = \Delta A/min \times 3376$

式中： $\Delta A/min$ =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( $\mu l$ )

15=待测样品体积( $\mu l$ )

**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 $\leq 5U/L$

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 $\leq 40mg/dl$ ，游离胆红素 $\leq 40mg/dl$ ，结合胆红素 $\leq 40mg/dl$ ，血红蛋白 $\leq 500mg/dl$ 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。

**相关产品：**

苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
GUS 染色液(即用型)
环保浸蜡脱蜡透明液
葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)
丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)