谷丙转氨酶(ALT/GPT)试剂盒(赖氏法)微板法

96T WLA114

仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

产品名称 谷丙转氨酶（ALT/GPT）试剂盒（赖氏法）微板法

产品概述 谷丙转氨酶（ALT）在37°C及PH7.4条件下，作用于丙氨酸及α-酮戊二酸组成的底物，生成丙酮酸及谷氨酸。反应30min后（固定时间）加入2,4-二硝基苯肼（DNPH）盐酸溶液，既中止反应，同时DNPH与酮酸中羰基加成，生成丙酮酸苯腙。苯腙在碱性条件下呈红棕色，于510nm比读吸光度并计算酶活力。

包装信息

试剂名称	WLA114 (96T)	保存条件
基质缓冲液	5ml	4°C，避光
2，4-二硝基苯肼	5ml	4°C，避光
4mol/L NaOH 溶液	5ml	室温密封
2mmol/L丙酮酸钠标准液	1支	4°C
0.1mol/L磷酸盐缓冲液	1支	4°C

保存日期 本试剂盒自订购之日起6个月内有效。

操作流程

1. 试剂配制：

0.4mol/L NaOH 溶液的配制：临用时按4mol/L NaOH 溶液：双蒸水=1：9 的比例稀释，需多少配多少，室温密封保存。

2. 操作表：

试剂名称	测定管	对照管
待测样本（μl）	5	
基质液（μl）37°C已预温5min	20	20

测定孔每吸取一个样本，将吸嘴伸入孔板底部基质液中，反复吸打混匀后37°C水浴或气浴30分钟

2,4-二硝基苯肼（μl）	20	20
待测样本（μl）		5

对照孔每吸取一个样本，将吸嘴伸入孔板底部液体中，反复吸打混匀后37°C水浴或气浴20分钟

0.4mol/L NaOH（μl）	200	200

轻轻水平摇动96孔板混匀，室温放置15分钟，510nm波长，酶标仪测各孔OD值，以（绝对OD值=测定孔OD值-对照孔OD值），查标准曲线，求得相应的ALT/GPT活力单位。

注意事项

1. 赖氏法标准曲线所定单位数，是用实验方法和卡门氏分光光度法（速率法）作对比测定求得的。以卡门氏单位报告结果，比较准确。**卡门氏单位定义为**：1ml血清，反应液总容量3ml，波长340nm，1cm光径，25°C，1min内所生成的丙酮酸，使NADH氧化成NAD^+而引起吸光度每下降0.001为一个单位（1卡门氏单位=0.482 IU/L，25°C）。
2. 一般血清标本内源性丙酮酸很少，个体相差也不大,作大批标本测定时，不需每份标本都作对照管,严重脂血、黄疸、溶血及陈旧血清须作自身对照管。
3. 酶活力超过150单位时，用盐水稀释血清后重测。
4. 应将一般血清的对照管（或称标本空白管）的吸光度作为日常质控的指标之一；如相差大，可考虑α-酮戊二酸浓度、DNPH浓度及仪器等原因引起。
5. 血清中ALT在室温（25°C）可保存2天，在4°C可保存一周，在-25°C可保存1个月。

谷丙转氨酶（ALT/GPT）试剂盒 (赖氏法)微板法

96T WLA114

仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

组织GPT活力计算公式：

$$\text{组织中GPT活性（U/gprot）} = \frac{\text{通过标准曲线得匀浆液GPT活力（U/L）}}{\text{匀浆蛋白浓度（gprot/L）}}$$

附标准曲线制备：

管号	0	1	2	3	4	5
0.1mol/L磷酸盐缓冲液（μl）	5	5	5	5	5	5
2mmol/L丙酮酸钠标准液（μl）	0	2.5	5	7.5	10	12.5
基质缓冲液（μl）	20	17.5	15	12.5	10	7.5
2,4-二硝基苯肼（μl）	20	20	20	20	20	20

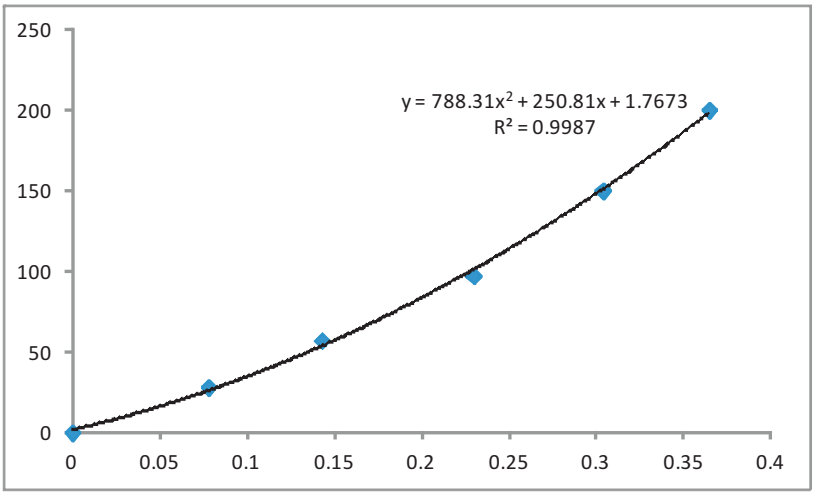
每孔每吸取一个标准，将吸嘴伸入孔板底部液体中，反复吸打

混匀后37℃水浴或气浴20分钟

0.4mol/L NaOH 溶液（μl）	200	200	200	200	200	200

轻轻水平摇动96孔板混匀，室温放置15分钟，510nm波长，酶标仪测各孔OD值，各孔吸光度减去零孔吸光度，所得差值为绝对OD值，以绝对OD值作为横坐标，相应的卡门氏单位为纵坐标，作坐标图拟合公式，直接在Excel表中用公式计算样本中的ALT酶活性。

相当于酶活力卡门氏单位	0	28	57	97	150	200
绝对吸光度参考值（ml）	0	0.078	0.143	0.230	0.304	0.365



附肝脏样本前处理：

准确称取组织重量，按重量（g）：体积=1：9 的比例，加入9倍体积的生理盐水，冰水条件下机械匀浆，制备成10%的组织匀浆，2500转/分，离心10分钟，取上清液，再用生理盐水10倍稀释成1%的浓度待测。（同时取部分上清液测蛋白浓度，蛋白定量试剂盒本公司有售，货号为WLA004）