

# 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 $\alpha$ -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 ( $\mu$ l )	5	
基质液 ( $\mu$ l ) 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 ( $\mu$ l )	20	20
待测样本 ( $\mu$ l )		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 ( $\mu$ l )	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

- 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<sup>+</sup>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 )。
- 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。
- 酶活力超过150单位时, 用盐水稀释血清后重测。
- 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 $\alpha$ -酮戊二酸浓度、DNPH浓度及仪器等原因引起。
- 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

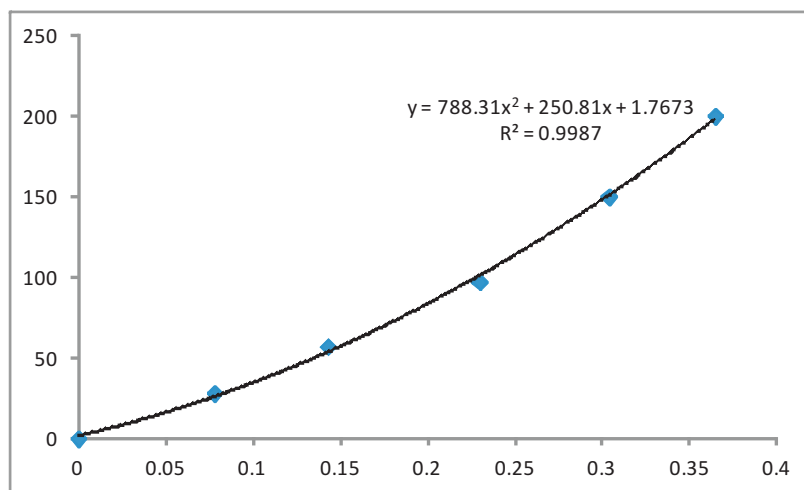
每孔每吸取一个标准，将吸嘴伸入孔板底部液体中，反复吸打

混匀后37°C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	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WLA004）