

谷丙转氨酶(ALT/GPT)试剂盒(赖氏法)可见光比色法

100管/50样 WLA113

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) 可见光比色法

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505nm比读吸光度并计算酶活力。

包装信息

试剂名称	WLA113 (100管/50样)	保存条件
基质缓冲液	50ml	4°C, 避光
2, 4-二硝基苯肼	50ml	4°C, 避光
4mol/L NaOH 溶液	50ml	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: 临时时按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 (ml)	0.1	
基质液 (ml) 37°C已预温5min	0.5	0.5

混匀后, 37°C水浴30min

2,4-二硝基苯肼 (ml)	0.5	0.5
待测样本 (ml)		0.1

混匀后, 37°C水浴20min

0.4mol/L NaOH (ml)	5	5
--------------------	---	---

混匀, 室温放置5min, 波长505nm, 光径1cm, 双蒸水调零, 测定各管吸光度OD值, 以 (绝对OD值=测定管OD值-对照管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⁺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 α -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)可见光比色法

100管/50样 WLA113

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:

$$\text{组织中GPT活性 (U/gprot)} = \frac{\text{通过标准曲线得匀浆液GPT活力 (U/L)} \times \text{匀浆蛋白浓度 (gprot/L)}}{1}$$

附标准曲线制备:

管号	0	1	2	3	4	5
0.1mol/L磷酸盐缓冲液 (ml)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
2mmol/L丙酮酸钠标准液 (ml)	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
基质缓冲液 (ml)	0.50	0.45	0.40	0.35	0.30	0.25
2,4-二硝基苯肼 (ml)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50

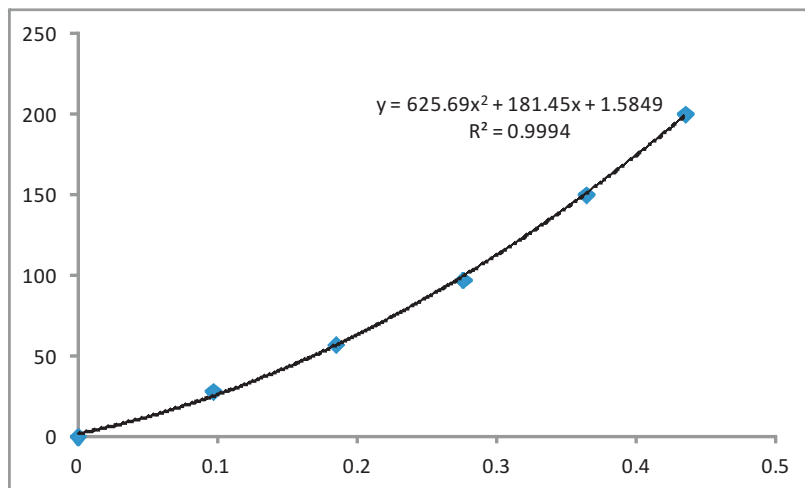
混匀后, 37°C水浴20min

0.4mol/L NaOH 溶液 (ml)	5	5	5	5	5	5
-----------------------	---	---	---	---	---	---

混匀, 室温放置10min, 波长505nm, 光径1cm, 双蒸水调零, 测定各管吸光度值。

各管吸光度减去零管吸光度, 所得差值为横坐标, 相应的卡门氏单位为纵坐标, 绘制标准曲线。

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	0.097	0.185	0.276	0.364	0.435



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)