

谷丙转氨酶(ALT)检测试剂盒

微板法

货号: BRK0007

实验原理

37℃、pH7.4 条件下, 谷丙转氨酶 (ALT) 催化丙氨酸与 α -酮戊二酸之间的氨基转换反应, 生成丙酮酸和谷氨酸, 反应时间过后, 加入苯肼, 与丙酮酸生成苯腙, 苯腙在碱性条件下呈红棕色。在 505nm 比读吸光度并计算酶活力。本试剂盒检测组织或细胞时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用 BCA 法。

检测范围: 0.75-72.3IU/L 灵敏度: 0.75IU/L

产品信息

试剂名称	规格 (96T/45S)
提取液	100mL×1 瓶
试剂一	2mL×1 瓶
试剂二	2mL×1 瓶
试剂三	20mL×1 瓶
标准品	粉剂×2 瓶
保 存	-2-8℃
有效期	6 个月
用 途	仅供科研使用

使用方法

样本处理及要求

试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.75-72.3IU/L, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩, 样本的稀释液为提取液。

若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。

组织样本: 按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例 (建议约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液) 进行冰浴匀浆, 离心机 4℃, 10000 g, 10min, 取上清, 置冰上待测。部分上清样本用于蛋白浓度测定。

血清 (浆) 等液体样本: 直接测定 (若有浑浊则离心后取上清测定)。

细胞/细菌样本: 按照细菌或细胞数量(10^4 个): 提取液体积(mL)为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 10000 g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。部分上清样本用于蛋白浓度测定。



检测前准备工作

1.请提前取出试剂盒，平衡至室温，

2.标准品溶液的配制：取一瓶标准品加 1mL 蒸馏水混匀为 20mmol/L 标准品，稀释 10 倍后使用，即取 20mmol/L 标准品 0.1mL 加 0.9mL 蒸馏水混匀为 2mmol/L 标准品。

操作步骤

1.酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm。

2.试剂一 37℃预温 10min。

3.标准曲线（在 96 孔板中依次加入）

编号	0	1	2	3	4	5
提取液 (μL)	5	5	5	5	5	5
2mmol/L 标准品 (μL)	0	2	4	6	8	10
试剂一 (μL)	20	18	16	14	12	10
试剂二 (μL)	20	20	20	20	20	20
酶标仪震板 10s 混匀，37℃孵育 30min						
试剂三 (μL)	200	200	200	200	200	200
酶标仪震板 10s 混匀，室温放置 15min，波长 505nm，酶标仪测定各孔 OD 值，各孔 OD 值减去零孔 OD 值，所得差值=绝对 OD 值作为横坐标，以 0、28、57、97、150、200 卡门氏单位为纵坐标，绘制二次函数曲线。						



4. 样本测定（在 96 孔板中依次加入）：

试剂名称(μL)	测定孔	对照孔
试剂一（37℃预温 10min）	20	20
样本	5	
测定孔加入一个样本，都需将吸嘴伸入板孔液体中吸打混匀，37℃孵育 30min		
试剂二	20	20
样本		5
对照孔加入一个样本，都需将吸嘴伸入板孔液体中吸打混匀，37℃孵育 20min		
试剂三	200	200
混匀，室温放置 15min，505nm 波长，测各孔 OD 值。		

注：每个测定孔设置一个对照孔。

实验结果计算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax^2+bx+c$ 。

2. 卡门氏单位定义：

25℃，1mL 液体，反应液总量 3mL，波长 340nm，1cm 光径，1min 内所生成的丙酮酸，使 NADH 氧化成 NAD⁺而引起 OD 值下降 0.001 为一个单位。（1 卡门氏单位=0.482IU/L，25℃）

3. 国际单位定义：

25℃条件下，每分钟催化 1μmolNADH 减少量所需的酶量为一个单位。

ALT 含量 (IU/L) $= (a \times A_2 + b \times A + c) \times 0.482 \text{ IU/L} \times N$

4. 细胞、组织中 ALT 浓度计算公式：

ALT 含量 (IU/gprot) $= (a \times A_2 + b \times A + c) \times 0.482 \text{ IU/L} \times N \div \text{Cpr}$



注:

y: 卡门氏单位 (0、28、57、97、150、200)

x: 标准品 OD 值-空白 OD 值 (卡门氏单位为 0 时的 OD 值)

a,b,c: 拟合曲线相应的常数

 ΔA : 样本的绝对 OD 值 (样本测定 OD 值-样本对照 OD 值)

N: 样本稀释倍数

*: 25°C条件下, 一卡门氏单位=0.482IU/L

Cpr: 组织样本蛋白浓度, gprot/L

参考样本数据:

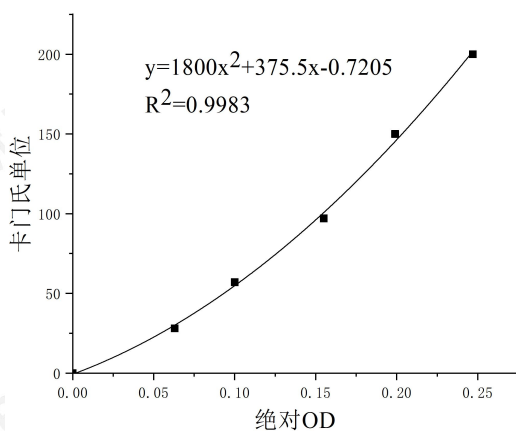
以下数据仅供参考:

样本类型	稀释倍数	参考值
大鼠肝脏 (10%匀浆)	40 倍稀释	169IU/L
大鼠肾脏 (10%匀浆)	不稀释	1.96IU/L
大鼠心脏 (10%匀浆)	不稀释	10.35IU/L



参考曲线:

$y = 1800x^2 + 375.5x - 0.7205$, $R^2 = 0.9983$, x 是标准品的绝对 OD 值, y 是卡门氏单位。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

注意事项

1. 不能使用过期产品, 不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用, 以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病, 所有的样品都应管理好, 按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂, 使用前请甩几下, 使粉剂落入底部。

企业质量体系

上海中乔新舟生物有限公司已取得 ISO 9001、GBT13485 医疗器械质量管理体系认证, 全流程质量管控合规可靠。

文献奖励

科研论文引用中乔新舟产品并成功见刊, 可享文献奖励。

- 发表[中文论文]请标注: 谷丙转氨酶(ALT)测定试剂盒 (BRK0007)由上海中乔新舟生物科技有限公司提供;
- 发表[英文论文]请标注: Alanine Aminotransferase (ALT) Assay Kit (BRK0007)were kindly provided by Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd." 或 "ZQXZbio"

获取详情方式

- 关注【中乔新舟】公众号, 在菜单栏点击**快速查询**, 选择**文献奖励**, 即可查看文献奖励详细规则;
- 咨询官方客服, 获取文献奖励详细规则。

****活动最终解释权归中乔新舟生物所有****

