

CheKine™ 丙氨酸氨基转移酶（谷丙转氨酶/ALT/GPT）活性检测试剂盒（IFCC 速率法）

货号: KTB2302

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动物组织、细胞、血清(浆)
	保质期: 4℃, 避光保存 12 个月

01 背景与原理

谷丙转氨酶（Alanine Amino transferase, ALT/GPT, EC 2.6.1.2），又称为丙氨酸氨基转移酶，主要存在于肝细胞中。正常生理状态下，血清中的 ALT 含量极低。当炎症或坏死等因素造成肝细胞受损时，细胞内的 ALT 便会释放到血液中，使血清中的 ALT 升高。因此，血清 ALT 活性是反映肝细胞损伤的灵敏指标，广泛用于肝脏疾病的早期诊断、病情监测和预后评估。

本试剂盒检测原理是 ALT 催化丙氨酸和 α -酮戊二酸反应生成丙酮酸和谷氨酸。乳酸脱氢酶催化丙酮酸和 NADH 反应生成乳酸和 NAD^+ ，通过测定 NADH 在 340 nm 处吸光度的下降速率来测定 ALT 的活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	11 mL	22 mL	4℃
Reagent II	2 mL	4 mL	4℃, 避光保存
Reagent III	3 mL	6 mL	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	1×PBS (pH 7.4)、去离子水	样本制备/检测体系配制用
其他	匀浆器或研钵（组织样本）、超声破碎仪（细胞）、 恒温箱、离心机、制冰机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本公司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存

05-2 样本制备

- 注意：1.推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把完整细胞和分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。
- 2.该试剂盒提取的样本也可以适用于 KTB2303 的测定。
- 动物组织：称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 1×PBS (pH 7.4)，使用预冷好的研磨仪冰浴匀浆（推荐参数：加入 3 颗 3 mm 钢珠，55 HZ，匀浆 30 s，间隔 10 s，重复 4 次），然后 10000 g，4℃离心 10 min，取上清置于冰上待测。
 - 细胞：收集 5×10⁶ 个细胞到离心管内，用预冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1 mL 1×PBS (pH 7.4)，使用预冷好的研磨仪冰浴匀浆（推荐参数：加入 3 颗 3 mm 钢珠，55 HZ，匀浆 30 s，间隔 10 s，重复 4 次），然后 10000 g，4℃离心 10 min，取上清置于冰上待测。
 - 血清（浆）：直接检测。

05-3 实验步骤

- 1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
- 2. Working Reagent 的配制：临用前配制；根据用量每孔分别加入 180 μL Reagent I 和 20 μL Reagent II，充分混匀待用，按需配制，现配现用。
- 3. 检测体系配制：空白孔只需测定 1 次，在 96 孔 UV 板中按照如下方式操作：

试剂	测定孔 (μL)	空白孔 (μL)
样本	20	0
去离子水	0	20
Working Reagent	200	200
充分混匀，37℃孵育 5min		
Reagent III	50	50

- 4. 吸光度检测：充分混匀后，37℃静置 1 min，于 340 nm 处测定吸光值 A₁，分别记为 A_{1 测定}、A_{1 空白}；37℃准确反应 2 min，测定 340 nm 处吸光值 A₂，分别记为 A_{2 测定}、A_{2 空白}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{测定} = A_{1 测定} - A_{2 测定}$ ， $\Delta A_{空白} = A_{1 空白} - A_{2 空白}$ ， $\Delta\Delta A = \Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}$ 。

2. 样本 ALT 活性计算

- 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 g 蛋白在反应体系中每分钟消耗 1 μmol NADH 定义为一个酶活性单位。

$ALT (U/g \text{ prot}) = [\Delta\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{样} \times Cpr) \div T = 2170.4 \times \Delta\Delta A \div Cpr$

- 按样本质量计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟消耗 1 μmol NADH 定义为一个酶活性单位。

$ALT (U/g) = [\Delta\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 2.17 \times \Delta\Delta A \div W$

- 按样本体积计算：

单位的定义：每 L 液体在反应体系中每分钟消耗 1 μmol NADH 定义为一个酶活性单位。

$ALT (U/L) = [\Delta\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{样} \div T = 2170.4 \times \Delta\Delta A$

- 按细胞数量计算：

单位的定义：每 10⁶ 个细胞每分钟消耗 1 μmol NADH 定义为一个酶活性单位。

$ALT (U/10^6) = [\Delta\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (N \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 2.17 \times \Delta\Delta A \div N$

ε：NADH 摩尔消光系数，6.22×10³ L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；10⁶：换算系数，1 mol=10⁶ μmol；V_{反总}：反应体系体积，0.27×10⁻³ L；W：样本质量，g；V_样：反应体系中样本加入体积，0.2×10⁻⁴ L；V_{样总}：加入 1×PBS (pH 7.4) 体积，0.001 L；T：反应时间，2 min；Cpr：样本蛋白浓度，g/L；N：细胞数量，以 10⁶ 为单位(例如细胞数量为 5×10⁶，N=5)。

07 结果展示

示例-1: 取 0.1 g 小鼠肝脏样本，按照样本制备步骤提取，将样本上清用 1×PBS (pH 7.4)稀释 20 倍，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得： $A_{1\text{测定}}=1.019$ ， $A_{2\text{测定}}=0.832$ ， $A_{1\text{空白}}=1.199$ ， $A_{2\text{空白}}=1.199$ ； $\Delta A_{\text{测定}}=A_{1\text{测定}}-A_{2\text{测定}}=0.187$ ， $\Delta A_{\text{空白}}=A_{1\text{空白}}-A_{2\text{空白}}=0$ ， $\Delta\Delta A=\Delta A_{\text{测定}}-\Delta A_{\text{空白}}=0.187$ 。稀释 20 倍的小鼠肝脏样本按样本质量计算得： $ALT(U/g)=2.17\times\Delta\Delta A\div W=4.058\text{ U/g}$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？
如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 接近 $\Delta A_{\text{空白}}$ ，可适当加大样本量或延长反应时间后重新进行测定，并同步修改计算公式。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 0.5，样本可用 1×PBS (pH 7.4)进一步稀释，或减少提取用样本量，再重新进行测定。小鼠肝脏样本建议稀释 10-100 倍，兔子肝脏样本建议稀释 5-20 倍。

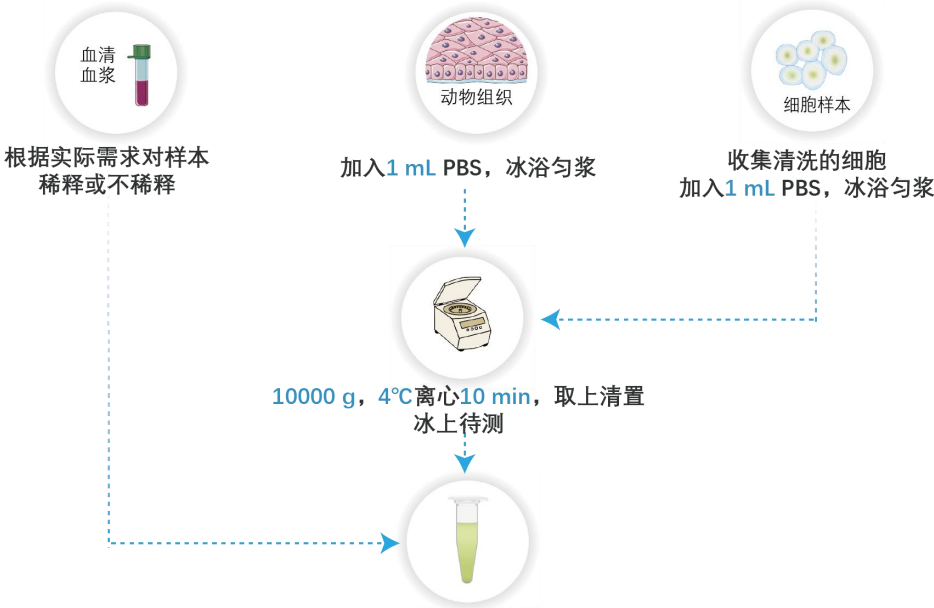
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB2303	CheKine™ 天门冬氨酸氨基转移酶（谷草转氨酶/AST/GOT）活性检测试剂盒（IFCC 速率法）
KTB1412	CheKine™ 总胆红素（TBIL）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1413	CheKine™ 直接胆红素（DBIL）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1700	CheKine™ 组织及血液碱性磷酸酶（AKP/ALP）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1410	CheKine™ 谷丙转氨酶（ALT/GPT）活性检测试剂盒（微量法）（赖氏法）
KTB1420	CheKine™ 谷草转氨酶（AST/GOT）活性检测试剂盒（微量法）（赖氏法）
KTB1690	CheKine™ γ-谷氨酰转肽酶（γ-GT）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 丙氨酸氨基转移酶（谷丙转氨酶/ALT/GPT） 活性检测流程示意图（IFCC 速率法）

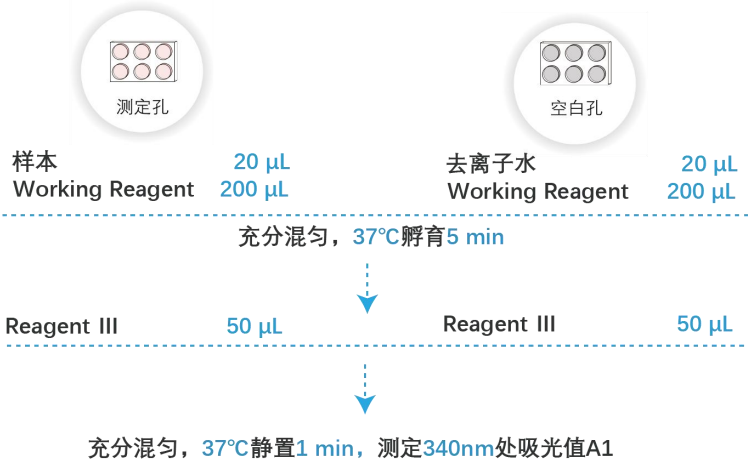
（Abbkin 货号：KTB2302）

样本处理



体系配置

Working Reagent: 每孔200 μL
Reagent I 180 μL
Reagent II 20 μL



数据检测

