

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K235-S

产品规格: 50 assays(19 samples)/ 100 assays(44 samples)

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计 (505 nm)

## Elabscience®谷丙转氨酶(ALT/GPT)比色法测试盒

### Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Activity Assay

### Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: [biochemical@elabscience.cn](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

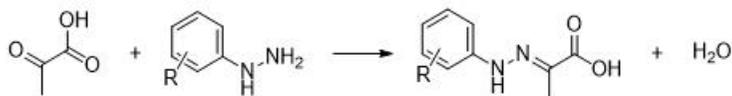
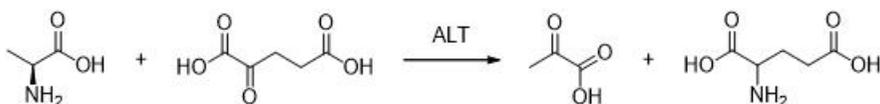
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

## 用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、动物组织、细胞等样本的 ALT 活力。

## 检测原理

在 37°C、pH7.4 条件下，谷丙转氨酶（ALT）催化丙氨酸与  $\alpha$ -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。



本试剂盒检测组织或细胞时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	1.8 mL×1 支	1.8 mL×1 支	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	2 mmol/L 丙酮酸钠 溶液 (2 mmol/L Sodium Pyruvate)	1.8 mL×1 支	1.8 mL×1 支	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物基质溶液 (Substrate Solution)	30 mL×1 瓶	30 mL×2 瓶	2-8°C保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	30 mL×1 瓶	30 mL×2 瓶	2-8°C避光 保存 6 个月

试剂五 (Reagent 5)	碱溶液 (Alkali Reagent)	30 mL×1 瓶	30 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
--------------------	-------------------------	-----------	-----------	-----------------

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，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。

## 所需自备物品

**仪器：**紫外-可见分光光度计（505 nm），恒温箱(37℃)

**试剂：**双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）、PBS（0.01 M，pH 7.4）。

## 试剂准备

① 检测前，试剂平衡至室温。

② 试剂五工作液：

将试剂五：双蒸水按照1:9的体积比稀释，现用现配。

③ 取部分试剂三，在37℃恒温箱中预温10 min。

## 样本准备

### ① 样本处理

血清(浆)等液体样本：直接测定。

组织样本：组织样本使用生理盐水(0.9% NaCl)匀浆处理。离心后取上清进行测定，部分上清样本用于蛋白浓度测定。

细胞样本：细胞样本使用生理盐水(0.9% NaCl)进行机械匀浆或超声破碎。匀浆离心后取上清进行测定，部分上清样本用于蛋白浓度测定。

### ② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1.26-72.30 IU/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%大鼠肝匀浆	30-60	HepG2 细胞匀浆	不稀释
10%大鼠肾匀浆	不稀释	人血浆	不稀释
人血清	不稀释		

注：样本稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS (0.01 M, pH 7.4)。

## 实验关键点

- ① 加样或者试剂时，EP 管的管壁上不能挂液。
- ② 样本须新鲜（血清样本 2-8℃保存 7 天，-25℃保存 20 天）。

## 操作步骤

### 标曲部分

- ① 标准管：将 10 mL EP 管编号 A、B、C、D、E、F，每个编号两个，分别加入 0.1 mL 试剂一。
- ② 向①中从 A 管到 F 管分别加入 0、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 mL 的试剂二。
- ③ 向②中从 A 管到 F 管分别加入 0.50、0.45、0.40、0.35、0.30、0.25 mL 的试剂三。
- ④ 向③中，加入 0.5 mL 试剂四，混匀后，37°C 孵育 20 min。
- ⑤ 向各管加入 5 mL 试剂五工作液。
- ⑥ 室温静置 10 min，505 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度值。

**注：**以绝对 OD 值（各管 OD 值-A 管 OD 值）为横坐标，相对应的卡门氏单位（0、28、57、97、150、200）为纵坐标，绘制标准曲线。

### 样本部分

- ① 向测定管中加入 0.1 mL 待测样本。
- ② 向测定管、对照管中加入 0.5 mL 已经预温 10 min 的试剂三。
- ③ 混匀后，37°C 孵育 30 min。
- ④ 向测定管和对照管中，加入 0.5 mL 试剂四。
- ⑤ 向对照管加入，0.1 mL 待测样本。
- ⑥ 混匀后，37°C 孵育 20 min。
- ⑦ 向各管加入 5 mL 试剂五工作液。
- ⑧ 室温静置 10 min，505 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度值。

## 操作表

### 标准曲线

	A	B	C	D	E	F
试剂一(mL)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
试剂二(mL)	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
试剂三(mL)	0.50	0.45	0.40	0.35	0.30	0.25
试剂四(mL)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
充分混匀后, 37°C孵育 20 min						
试剂五工作液(mL)	5	5	5	5	5	5
室温静置 10 min, 505 nm 处, 1 cm 光径石英比色皿, 双蒸水调零, 测各管 OD 值。						

### 样本测定

	对照管	测定管
待测样本(mL)	--	0.1
37 °C预温 10 min 的试剂三(mL)	0.5	0.5
混匀后, 37°C孵育 30 min。		
试剂四(mL)	0.5	0.5
待测样本(mL)	0.1	--
混匀后, 37°C孵育 20 min。		
试剂五工作液(mL)	5	5
室温静置 10 min, 505 nm 处, 1 cm 光径石英比色皿, 双蒸水调零, 测各管 OD 值。		

本试剂盒检测组织或细胞样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

## 结果计算

标准品拟合曲线:  $y = a x^2 + b x + c$

卡门氏单位定义:

25°C, 1 mL 液体, 反应液总量 3 mL, 波长 340 nm, 1 cm 光径, 1 min 内所生成的丙酮酸, 使 NADH 氧化成  $\text{NAD}^+$  而引起吸光度下降 0.001 为一个单位。(1 卡门氏单位=0.482 IU/L, 25°C)

国际单位定义:

25°C 条件下, 每分钟催化 1  $\mu\text{mol}$  NADH 减少量所需的酶量为一个单位。

血清(浆)、细胞上清中 ALT 浓度计算公式:

$$\text{ALT 含量 (IU/L)} = [a \times (\Delta A_{505})^2 + b \times \Delta A_{505} + c] \times 0.482 \text{ IU/L}^* \times f$$

细胞、组织中 ALT 浓度计算公式:

$$\text{ALT 含量 (IU/gprot)} = [a \times (\Delta A_{505})^2 + b \times \Delta A_{505} + c] \times 0.482 \text{ IU/L}^* \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解:

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

$\Delta A_{505}$ : 样本测定 OD 值-样本对照 OD 值

\*: 25°C 条件下, 一卡门氏单位=0.482 IU/L

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

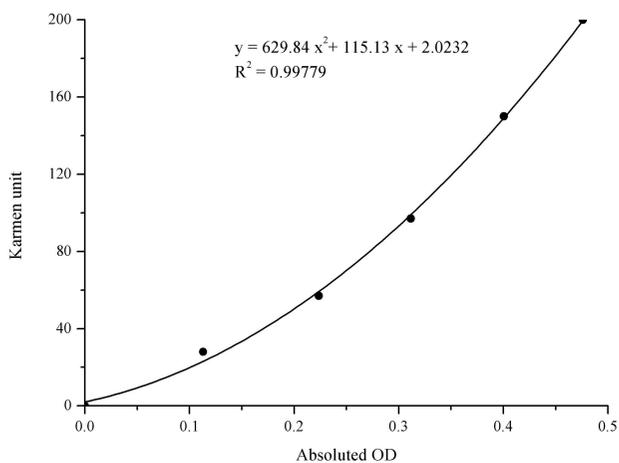
$C_{\text{pr}}$ : 组织样本蛋白浓度: gprot/L

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

检测范围	1.26-72.30 IU/L	平均批间差	8.2 %
灵敏度	1.26 IU/L	平均批内差	4.3 %

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)



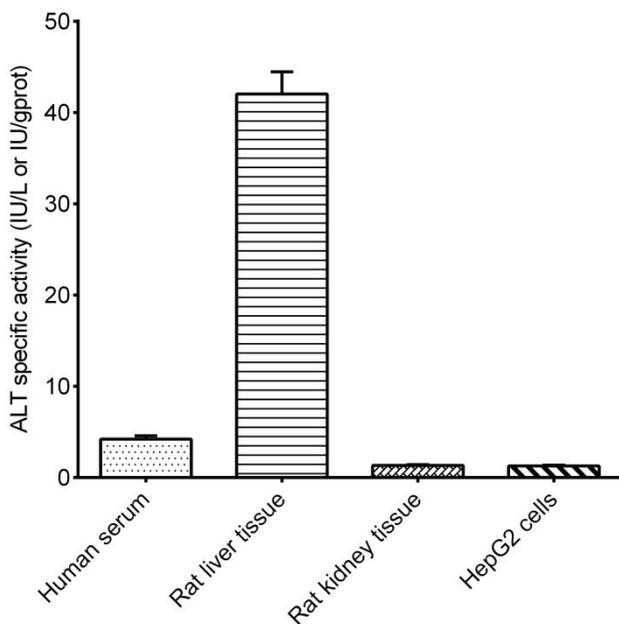
## 附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取0.1 mL人血清, 按操作表操作, 结果如下: 标准曲线:  $y = 629.84 x^2 + 115.13 x + 2.0232$ , 对照管平均OD值为0.240, 测定管平均OD值为0.288, 计算结果为:

$$\text{ALT 含量 (IU/L)} = [629.84 \times (0.288 - 0.240)^2 + 115.13 \times (0.288 - 0.240) + 2.0232] \times 0.482 = 4.34 \text{ IU/L}$$

按说明书操作, 测定人血清(加样量0.1 mL)、大鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量13.11 gprot/L, 稀释50倍, 加样量0.1 mL)、大鼠肾脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量9.26 gprot/L, 加样量0.1 mL)、HepG2细胞(蛋白含量1.83 gprot/L, 加样量0.1 mL)中ALT活力(如下图):



### 附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	试剂五工作液加入速度不一样	加液速度保持一致
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测
样本测量结果>72.30 U/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数,重新检测

#### 声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。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。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

## 附录4 客户发表文献

1. Isaac R , Bandyopadhyay G , Rohm T V ,et al.TM7SF3 controls TEAD1 splicing to prevent MASH-induced liver fibrosis[J].Cell metabolism, 36(5):1030-1043.e7[2025-03-03].DOI:10.1016/j.cmet.2024.04.003.
2. Liu C , Zhang Z , Li B ,et al.Lipid Metabolic Disorders Induced by Organophosphate Esters in Silver Carp from the Middle Reaches of the Yangtze River[J].Environmental Science & Technology: ES&T, 2024(11):58.DOI:10.1021/acs.est.3c08610.
3. Shen Y , Chen D , Linghu M ,et al.MLKL deficiency alleviates acute alcoholic liver injury via inhibition of NLRP3 inflammasome[J].Toxicology, 2024, 506(000):12.DOI:10.1016/j.tox.2024.153864.
4. Arab H H , Eid A H , Alsufyani S E ,et al.Activation of AMPK/mTOR-Driven Autophagy and Suppression of the HMGB1/TLR4 Pathway with Pentoxifylline Attenuates Doxorubicin-Induced Hepatic Injury in Rats[J].Pharmaceuticals (14248247), 2024, 17(6).DOI:10.3390/ph17060681.
5. Rafa H , Oroian I , Cozma O M ,et al.Peripartal changes of metabolic and hormonal parameters in Romanian spotted cows and their relation with retained fetal membranes[J].Frontiers in Veterinary Science, 2024.DOI:10.3389/fvets.2024.1409666.
6. Salako A O , Atteh J O ,Akande, Taiwo OladoyeKolade, Isiaka OyeniyiBajomo, Eunice TayoAdegoke, Adejoke.Response of broilers to dietary inclusion of atoxigenic Aspergillus flavus strain as a biocontrol strategy of aflatoxin[J].Avian Pathology, 2024, 53(3):218-225.DOI:10.1080/03079457.2024.2316025.

