

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

谷草转氨酶活性测定试剂盒
Aspartate Aminotransferase (AST/GOT)
Activity Assay Kit

产品货号: BC00058

产品规格: 100T

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:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	谷草转氨酶活性测定试剂盒
产品英文名称	Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) Activity Assay Kit
检测方法	Colorimetric
样品类型	血清、血浆、组织、细胞
检测类型	Enzyme activity
检测仪器及波长	酶标仪 (510 nm)
检测范围	1.10-72.30 IU/L
灵敏度	1.1IU/L

产品简介

谷草转氨酶 (Aspartate Aminotransferase, AST) , 也称为天门冬氨酸氨基转移酶 (GOT) , 是一种广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中的酶。它催化天门冬氨酸和 α -酮戊二酸之间的转氨基反应, 这一反应在氨基酸代谢中至关重要。临床上, AST/GOT 常被用作心肌梗塞和心肌炎的辅助诊断指标, 同时, 当肝脏受损时, 其在血清中的浓度也会升高。

检测原理

AST/GOT 能使酮戊二酸和天门冬氨酸移换氨基和酮基, 生成谷氨酸和草酰乙酸。草酰乙酸在反应过程中可自行脱羧成丙酮酸。丙酮酸与 2,4-二硝基苯肼反应生成 2,4-二硝基苯腙, 在碱性溶液中显红棕色。比色后, 查标准曲线, 可求得酶的活力单位。

产品组分

编号	产品名称	包装规格 (100T)	保存方式
试剂一	底物基质液	5mL	-20℃, 开瓶后 2-8℃保存。
试剂二	显色剂	5mL	-20℃, 开瓶后 2-8℃避光保存。
试剂三	碱溶液	5mL	-20℃, 开瓶后 2-8℃保存。
试剂四	2 μ mol/mL 丙酮酸钠标准品	0.5mL	-20℃, 开瓶后 2-8℃保存。
试剂五	缓冲液	0.5mL	-20℃, 开瓶后 2-8℃保存。

耗材一	96 孔酶标板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 12 个月，开瓶使用后可在 2-8℃保存 6 个月。

实验前准备

• 样品处理

1. 血清(浆)等液体样本：直接测定。
2. 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。
3. 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。

• 试剂盒的准备工作

1. 检测前，试剂平衡至室温。
2. 试剂三工作液：将试剂三：双蒸水按照 1:9 的体积比稀释，现用现配。
3. 取部分试剂一，在 37℃ 恒温箱中预温 10 min。

操作流程

1. 标准曲线操作表如下：

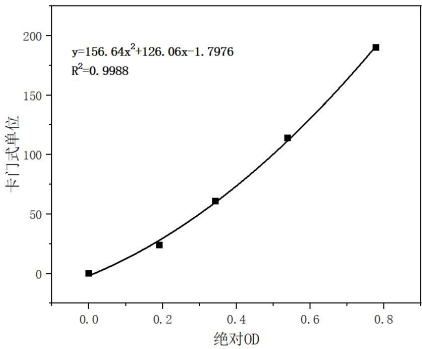
编号	0	1	2	3	4
试剂五 (μL)	5	5	5	5	5
试剂四 (μL)	0	2	4	6	8
试剂一 (μL)	20	18	16	14	12
试剂二 (μL)	20	20	20	20	20
混匀后，37℃反应 20 分钟。					
试剂三工作液 (μL)	200	200	200	200	200
轻轻水平摇动 96 孔板混匀，室温放置 15 分钟，波长 510nm，酶标仪测定各孔 OD 值，各孔吸					

光度减去零孔吸光度，所得差值=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。

2. 测定结果表(附参考标准曲线)如下:

实验测定的 OD 值	0.446	0.638	0.789	0.985	1.224
绝对 OD 值	0	0.192	0.343	0.539	0.778
酶活力卡门氏单位	0	24	61	114	190

标准曲线需要客户自己制作才更准确，操作步骤参照上述操作表，可以不用每次都绘制标准曲线。上表所列的卡门氏单位是对应的，所以该值固定不变，客户可以由此值和自己按操作表中的公式计算出用于样本计算的卡门氏单位。



3. 样本测定操作表如下:

	测定孔	对照孔
试剂一 (μL) 37℃已预温	20	20
待测样本 (μL)	5	--
37℃反应 30 分钟(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,但注意不要吸入气泡)		
试剂二 (μL)	20	20
待测样本 (μL)	--	5
37℃反应 20 分钟(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，但注意不要吸入气泡)		
试剂三工作液 (μL)	200	200

轻轻水平摇动 96 孔板混匀，室温放置 15 分钟，波长 510nm，酶标仪测定各孔 OD 值，以绝对 OD 值(测定孔 OD 值减去对照孔 OD 值)，查标准曲线，求得相应的 AST/GOT 活力单位。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = a x^2 + b x + c$

国际单位定义：25℃ 条件下，每分钟催化 1 μmol NADH 减少量所需的酶量为一个单位。

血清(浆)、细胞上清中 AST 浓度计算公式：

$$\text{AST 含量 (IU/L)} = [a \times (\Delta A_{510})^2 + b \times \Delta A_{510} + c] \times 0.482 \text{ IU/L}^* \times f$$

细胞、组织中 AST 浓度计算公式：

$$\text{AST 含量 (IU/gprot)} = [a \times (\Delta A_{510})^2 + b \times \Delta A_{510} + c] \times 0.482 \text{ IU/L}^* \times f \div C_{pr}$$

注解：

y: 卡门氏单位 (0、24、61、114、190)

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_{510} : 样本的绝对 OD 值 (样本测定 OD 值-样本对照 OD 值)

*: 25℃ 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

Cpr: 组织样本蛋白浓度: gprot/L

注意事项

1. 比色法中常用的有赖氏 (Reitman-Frankel) 法及金氏 (King) 法。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。
2. **卡门氏单位定义**：1mL 液体，反应液总容量成 3mL，波长 340nm，1cm 光径，25℃，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 U/L，25℃)。
3. 一般血清标本内源性丙酮酸很少，血清对照孔吸光度值接近试剂空白孔 (以双蒸水代替血清，其他和对照孔同样操作)。所以，成批标本测定时，一般不需要每一标本都作本

身血清对照孔，以试剂空白孔代替即可，但对脂血、黄疸或溶血血清，每份标本应作对照孔。

4. 酶活力超过 150 卡门氏单位时，用生理盐水稀释血清后重测。
5. 应将一般血清的对照孔（或称标本空白孔）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。
6. 血清中 AST 在室温（25℃）可保存 2 天，在 0~4℃可保存一周，在-25℃可保存 1 个月。
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。