

谷草转氨酶 (AST/GOT) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0322	谷草转氨酶 (AST/GOT) 活性检测试剂盒	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 30mL × 1 瓶	4℃
试剂一	粉剂×1 瓶: 临用前每支用 8mL 蒸馏水溶解; 现用现配。	4℃
试剂二	液体 8mL × 1 瓶	4℃
试剂三	液体 80mL × 1 瓶	4℃
标准品	液体 1mL×1 支, 20μmol/mL 丙酮酸钠标准品。	4℃

一、产品说明

谷草转氨酶 (AST/GOT) (2.6.1.1) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 催化可逆转氨基反应, 是氨基酸代谢的重要酶。此外, AST/GOT 在心肌细胞中含量最高, 临床上一般常作为心肌梗塞和心肌炎的辅助检查。肝脏损害时其血清浓度也可升高。

AST/GOT 催化 α -酮戊二酸和天门冬氨酸发生转氨基反应, 生成谷氨酸和草酰乙酸, 草酰乙酸进一步自行脱羧生成丙酮酸; 丙酮酸可与 2,4-二硝基苯肼反应生成 2,4-二硝基苯腙, 在碱性条件下显棕红色; 测定 505nm 吸光度的变化, 即可计算 AST/GOT 酶活力。

二、自备材料

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品制备

- 1、组织: 按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆。3500g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞/细菌: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 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 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 3500g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、血浆/血清: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 505nm, 蒸馏水调零。
- 2、首先将标准品用蒸馏水稀释至 2μmol/mL, 按下表 混合标准品和试剂一得到相应浓度度标准管:

标准品 (μL)	试剂一 (μL)	标准管浓度 (μmol/mL)
----------	----------	-----------------

120	0	2
90	30	1.5
60	60	1
45	75	0.8
24	96	0.4
12	108	0.2
6	114	0.1
3	117	0.05
0	120	0

3、在 EP 管中依次加入下列试剂:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
样本	20		
试剂一	100	100	
标准液			120
混匀后, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 预热 30min。			
试剂二	100	100	100
样本		20	
混匀后, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 准确水浴 20min。			
试剂三	1000	1000	1000
混匀, 室温放置 10min, 在 505nm 波长处, 测各管吸光度。注: 0μmol/mL 标准管为空白管。			

五、活性的计算

1、标准曲线:

以各标准溶液浓度为 x 轴, 以 ΔA (A 标准管-A 空白管) 为 y 轴做标准曲线, 得到方程 $y=kx+b$ 。
 将 (A 测定管-A 对照管) 带入方程求 x 值。

2、按照样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每小时每 mg 组织蛋白催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个 AST/GOT 活力单位。
 $AST/GOT (U/mg \text{ prot}) = x \times (V \text{ 样本} + V \text{ 试剂一}) \div (Cpr \times V \text{ 样本}) \div T = 12x \div Cpr$ 。

3、按照样本鲜重计算:

单位定义: 每小时每 g 鲜重样品催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个 AST/GOT 活力单位。
 $AST/GOT (U/g \text{ 鲜重}) = x \times (V \text{ 样本} + V \text{ 试剂一}) \div (W \times V \text{ 样本} \div V \text{ 样总}) \div T = 12x \div W$ 。

4、按照细胞/细菌数量计算:

单位定义: 每小时每 10^4 个细胞样品催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个 AST/GOT 活力单位。
 $AST/GOT (U/10^4 \text{ ceLL}) = x \times (V \text{ 样本} + V \text{ 试剂一}) \div (V \text{ 样本} \div V \text{ 样总} \times 500) \div T = 0.024x$ 。

5、按照血清/血浆体积计算:

单位定义: 每小时每 mL 血清样品催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个 AST/GOT 活力单位。
 $AST/GOT (U/mL) = x \times (V \text{ 样本} + V \text{ 试剂一}) \div V \text{ 样本} \div T = 12x$ 。

V 样本: 吸取样本体积, 0.02mL; V 试剂一: 吸取试剂一体积, 0.1mL; V 样总: 吸取提取液体积, 1mL; W: 样本鲜重, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; T: 反应时间, 0.5h; 500: 细胞数量或微生物数量, 500 万。

