

谷草转氨酶 (AST/GOT) 活性检测试剂盒 (微量法) (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
YFX0323	谷草转氨酶 (AST/GOT) 活性检测试剂盒 (微量法)	100 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 60mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 2.5mL × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 3mL × 1 瓶	4℃
试剂三	液体 25mL × 1 瓶	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

可见分光光计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品准备

- 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。8000g 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、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 505nm, 蒸馏水调零。
- 2、在 EP 管或 96 孔板中按照下表操作:

试剂名称 (μ L)	测定管 (μ L)	对照管 (μ L)
待测样本	10	

煮沸 10min 的待测样本		10
试剂一	25	
蒸馏水		25
混匀后, 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 准确反应 20min。		
试剂二	25	25
混匀后, 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 准确反应 20min。		
试剂三	240	240
混匀, 室温 (25℃) 放置 10min, 505nm 波长处测各管吸光度 A。ΔA=A 测定管-A 对照管。 每个测定管需设一个对照管。		

五、活性的计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式如下:

标准条件下测定的回归曲线, $y = 0.2384x - 0.0013$, (x 为标准品浓度, $\mu\text{mol/mL}$; y 为 ΔA)。

1、按照样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.2384 \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \times 10^3$$

$$= 209.7 \times (\Delta A + 0.0013) \div \text{Cpr}。$$

需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

2、按照样本鲜重计算:

单位的定义: 每 g 组织每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.2384 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \div T \times 10^3$$

$$= 209.7 \times (\Delta A + 0.0013) \div W。$$

3、按照细菌或细胞数量计算:

单位的定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/10}^4\text{ceLL)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.2384 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) \div T \times 10^3 = 0.419 \times (\Delta A + 0.0013)。$$

4、按照血清或血浆体积计算:

单位的定义: 每 mL 血清 (浆) 每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/mL)} = (\Delta A + 0.0013) \div 0.2384 \div T \times 10^3 = 209.7 \times (\Delta A + 0.0013)。$$

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.01mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 20 min;
Cpr: 蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万; 10^3 : $1\mu\text{mol/mL} = 10^3\text{nmol/mL}$ 。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下:

标准条件下测定的回归曲线, $y = 0.4768x - 0.0013$, (x 为标准品浓度, $\mu\text{mol/mL}$; y 为 ΔA)。

1、按照样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.4768 \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \times 10^3$$

$$= 104.9 \times (\Delta A + 0.0013) \div \text{Cpr}。$$

需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

2、按照样本鲜重计算:

单位的定义: 每 g 组织每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.4768 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \div T \times 10^3 \\ = 104.9 \times (\Delta A + 0.0013) \div W。$$

3、按照细菌或细胞数量计算:

单位的定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/10}^4\text{ceLL)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.4768 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) \div T \times 10^3 \\ = 0.21 \times (\Delta A + 0.0013)。$$

4、按照血清或血浆体积计算:

单位的定义: 每 mL 血清(浆)每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/mL)} = (\Delta A + 0.0013) \div 0.24768 \div T \times 10^3 = 104.9 \times (\Delta A + 0.0013)。$$

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.01mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 20min;
Cpr: 蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万; 10^3 : $1\mu\text{mol/mL} = 10^3 \text{ nmol/mL}$ 。

六、注意事项

1、标准曲线线性范围为: $0.01\mu\text{mol/mL} - 2\mu\text{mol/mL}$ 。

2、 ΔA 线性范围为: 0.01 -1。