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 3.5mL ×1 瓶	4℃
试剂二	液体 3.5mL ×1 瓶	4℃
试剂三	液体 30mL ×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。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、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。

2、首先将标准品稀释至 2μmoL/mL，按下表混合标准品和试剂一得到相应浓度的标准管：

标准品（μL）	试剂一（μL）	标准管浓度（μmoL/mL）

22.5	7.5	1.5
15	15	1
12	18	0.8
6	24	0.4
3	27	0.2
1.5	28.5	0.1
0.75	29.25	0.05
0	30	0

3、在 EP 管或在 96 孔板中加入下列试剂：

试剂名称（μL）	测定管	对照管	标准管
样本	5		
试剂一	25	25	
标准液			30
混匀后，37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 30min。			
试剂二	25	25	25
样本		5	
混匀后，37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）准确反应 20min。			
试剂三	240	240	240
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、按照组织蛋白浓度计算

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 prot）=x×（V 样本+V 试剂一）÷（Cpr×V 样本）÷T =12x÷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 鲜重）=x×（V 样本+V 试剂一）÷（W×V 样本÷V 样总）÷T =12x÷W。

4、按照细菌/细胞密度计算

单位定义：每小时每 10^4 细菌或细胞催化产生 1μmoL 丙酮酸的量为一个 AST/GOT 活力单位。

AST/GOT（U/10^4ceLL）=x×（V 样本+V 试剂一）÷（500÷V 样总×V 样本）÷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×（V 样本+V 试剂一）÷V 样本÷T=12x。

V 样本：吸取样本体积，0.005mL；V 试剂一：吸取试剂一体积，0.025mL；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，500 万个。