

谷草转氨酶/天冬氨酸氨基转氨酶(GOT/AST)试剂盒

- 【产品简介】 ◆天冬氨酸氨基转移酶，俗称谷草转氨酶，缩写为AST或GOT (EC 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。
- ◆谷草转氨酶/天冬氨酸氨基转氨酶 (GOT/AST) 催化天门冬氨酸和 α -酮戊二酸发生转氨基反应，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，在碱性溶液中显棕红色；通过在520nm读取吸光值并计算出该酶活力大小。

【货 号】 TMC002

【规 格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	液体4mL×1瓶	4℃
试剂二	液体4mL×1瓶	4℃
试剂三	液体40mL×1瓶	4℃
标准品	粉体 mg×1支	4℃

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备：

①组织样本：

取约0.1g组织，加入1mL提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

注：若增加样本量，可按照组织质量(g):试剂一体积(mL)为1:5~10 的比例提取。

②细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取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200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；12000rpm，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

注：若增加样本量，可按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为500~1000:1的比例提取。

③血清(浆)样本:直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机测定：

①酶标仪预热30min以上，调节波长至520nm。

②可先做2个样本预测定，熟悉操作过程，并依据测出的吸光值A是否超出标准曲线的线性范围来做调整。

③在96孔板中依次加入：

试剂名称 (uL)	测定管	对照管
样本	10	
试剂一	20	20
混匀，于37℃孵育 10min		
试剂二	20	20
样本		10
混匀，于37℃孵育 10min		
试剂三	200	200
混匀，25℃孵育10min，于520nm处测定吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

④标准曲线结果计算①由标准品测定获得，如需重制见随货说明书或咨询。

3、结果计算：

①标准曲线方程： $y = 0.0209x + 0.0016$ ，x为标准品摩尔质量(nmol)；y是 ΔA

②按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克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。

$$\text{GOT/AST (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A - 0.0016) \div 0.0209] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T$$

$$= 139.5 \times (\Delta A - 0.0016) \div \text{Cpr}$$

③按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟催化产生1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{GOT/AST (nmol/min/g 鲜重)} &= [(\Delta A - 0.0016) \div 0.0209] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 139.5 \times (\Delta A - 0.0016) \div W\end{aligned}$$

④按细菌或细胞密度计算：

酶活定义：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。

$$\begin{aligned}\text{GOT/AST (nmol/min/10}^4\text{cell)} &= [(\Delta A - 0.0016) \div 0.0209] \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ &= 0.28 \times (\Delta A - 0.0016)\end{aligned}$$

⑤血清(浆)活力计算

酶活定义：每毫升血清(浆)每分钟催化产生1nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{GOT/AST (nmol/min/mL)} &= [(\Delta A - 0.0016) \div 0.0209] \div V1 \div T \\ &= 139.5 \times (\Delta A - 0.0016)\end{aligned}$$

V—提取液体积，1 mL； V1—反应体系中样本体积，0.01mL；

T—反应时间，30 min； W—样本质量，g；

500—细胞或细菌总数，万；

Cpr—样本蛋白质浓度，mg/mL

- 【注意事项】**
- 1、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。
 - 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
-