谷草转氨酶（GOT/AST）活性检测试剂盒说明书

规格：48 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1.使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测，如果ΔA>0.78，将上清液进行稀释后再检测，直至ΔA<0.78。

3.本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	55 mL×1	4℃	
试剂一	3 mL×1	4℃	
试剂二	3 mL×1	4℃避光	
试剂三	27 mL×1	4℃	
标准品	1 mL×1	4℃	20 μmol/mL 标准溶液，若重新做标曲则用到该试剂，标准系列溶液按照与待测样本相同的操作步骤同步测定。

三、仪器和用品

酶标仪、水浴锅/恒温培养箱、匀浆器/细胞超声破碎仪、96 孔板、可调式移液器、可降温离心机、超纯水/蒸馏水。

四、样品制备

1. 细菌/细胞样品的制备

细菌/细胞：收集细菌/细胞到离心管中，离心后弃上清。按照细菌/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/细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次）；10000 g，4℃离心 10 min 后，置于冰上，上清液为待测样本。

2. 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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，10000 g，4℃离心 10 min 后，置于冰上，上清液为待测样本。

3. 血清、血浆等液体样品：直接测定。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 505 nm 处。

2. 可按下表稀释标准品：

序号	稀释前浓度（μmol/mL）	标准液体积（μL）	超纯水/蒸馏水体积（μL）	稀释后浓度（μmol/mL）
1	20	100	1900	1
2	1	90	10	0.9
3	1	80	20	0.8
4	1	70	30	0.7
5	1	60	40	0.6
6	1	50	50	0.5
7	1	40	60	0.4
8	1	30	70	0.3
9	1	20	80	0.2
10	1	10	90	0.1
11	1	5	95	0.05
12（空白管）	1	-	100	0

3. 在 96 孔板中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	**测定管**	**对照管**	**标准管**
待测样本（μL）	5	-	-
试剂一（μL）	25	25	-
标准品（μL）	-	-	30
混匀后，37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）反应 30 min			
试剂二（μL）	25	25	25
待测样本（μL）	-	5	-
混匀后，37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）反应 20 min			
试剂三	240	240	240
充分混匀，室温放置 10 min，测定 505 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准、A 空白。ΔA 测定= A 测定-A 对照，ΔA 标准= A 标准-A 空白。每个测定			

管需设置一个对照管，标准曲线只需做 1~2 次。

六、计算：

1. 标准曲线绘制

以各标准溶液浓度为 x 轴，以ΔA 标准为 y 轴做标准曲线，得到方程 y=kx + b。将ΔA 带入方程求 x 值。

2.按照血清（浆）体积计算

单位定义：每小时每 mL 血清（浆）样本催化产生 1 μmol 丙酮酸的量为一个酶活性单位。

谷草转氨酶（GOT）活性（U/mL）=x×（V1+V2）÷V1÷T×F=12x×F

3.按照蛋白浓度计算**（需另外测蛋白浓度）**

单位定义：每小时每 mg 组织蛋白催化产生 1μmol 丙酮酸的量为一个酶活性单位。

谷草转氨酶（GOT）活性（U/mg prot）=x×（V1+V2）÷（V1×Cpr）÷T×F=12x÷Cpr×F

4.按照样本质量计算

单位定义：每小时每 g 样本催化产生 1 μmol 丙酮酸的量为一个酶活性单位。

谷草转氨酶（GOT）活性（U/g 鲜重）=x×（V1+V2）÷（W×V1÷V3）÷T×F=12x÷W×F

5.按照细菌/细胞密度计算

单位定义：每小时每 10^4 细菌/细胞催化产生 1 μmol 丙酮酸的量为一个酶活性单位。

谷草转氨酶（GOT）活性（U/10^4 cell）=x×（V1+V2）÷（N×V1÷V3）÷T×F=12x÷N×F

V1：加入样本体积，0.005 mL；V2：加入试剂一体积，0.025 mL；V3：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，0.5 h；F：样本稀释倍数；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；N：细胞/细菌总数（万个）。

七、产品简介

谷草转氨酶又叫天门冬氨酸氨基转移酶，广泛存在于各类生物当中，催化可逆转氨基反应，是氨基酸代谢的重要酶。