CheKine™谷草转氨酶（AST/GOT）活性检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB1420 Size: 96 T/48 S

	谷草转氨酶（AST/GOT）活性检测试剂盒（微量法）		
REF	**货号：**KTB1420	LOT	**批号：**见产品标签
	适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞、细菌		
	保质期：-20℃,避光保存 6 个月		

原理

谷草转氨酶（AST/GOT）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。血清 AST 活性水平是肝脏损伤的重要生化指标，可反映肝脏受损的严重程度。此外，AST 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。CheKine™ 谷草转氨酶（AST/GOT）活性检测试剂盒（微量法）提供了一种简单的检测方法检测生物样本如血清（浆）、动植物组织、细胞、细菌中谷草转氨酶（AST/GOT）的活性水平。谷草转氨酶（AST/GOT）在 37℃及 pH7.4 条件下，催化α-酮戊二酸和 L-天冬氨酸发生转氨基反应，生成谷氨酸和丙酮酸；丙酮酸可与 2,4-二硝基苯肼反应生成丙酮酸苯腙，在碱性条件下显棕红色，于 505 nm 测定吸光度，即可计算 AST/GOT 酶活力。

包装清单

试剂盒组分	规格（96 T）	储存条件
Extraction Buffer	60 mL×2	-20℃
Reagent Ⅰ	5 mL	-20℃
Reagent Ⅱ	4 mL	-20℃,避光保存
Reagent Ⅲ	30 mL	-20℃
Standard	1 mL	-20℃

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计（能测 505 nm 处的吸光度）
- 水浴锅、制冰机、低温离心机
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
- 去离子水
- 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

Extraction Buffer：即用型；使用前，平衡到室温；-20℃保存。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

Reagent Ⅰ：即用型；使用前，平衡到室温；-20℃保存。

Reagent Ⅱ：即用型；使用前，平衡到室温；-20℃避光保存。

ReagentⅢ：即用型；使用前，平衡到室温；-20℃保存。

Standard：即用型；使用前，平衡到室温；-20℃保存。

标准品准备：按下表混合 Standard 和 Reagent Ⅰ，得到相应浓度的标准品。

Standard（μL）	Reagent Ⅰ （μL）	Standard 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

注意：每次实验，请使用新配制的标准品；配制好的标准品需要在 4 h 之内使用。

样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

1. 动物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
2. 植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer 捣碎，冰浴匀浆，8,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
3. 细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），8,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
4. 血清（浆）：直接测定。

注意：如需样本蛋白浓度测定，推荐使用 Abbkine BCA 法蛋白质定量试剂盒，货号为 KTD3001。该试剂盒提取的样本也可以适用于 KTB1410（谷丙转氨酶）的测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 505 nm，可见分光光度计用去离子水调零。
2. 在 96 孔板或微量玻璃比色皿中加入下列试剂：

试剂	测定孔（μL）	对照孔（μL）	标准孔（μL）
样本	5	0	0
Reagent Ⅰ	25	25	0
不同浓度 Std.	0	0	30
混匀后，37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 30 min			
Reagent Ⅱ	25	25	25
样本	0	5	0
混匀后，37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）准确反应 20 min			

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

Reagent Ⅲ	240	240	240

3. 混匀，室温静置 10 min，在 505 nm 波长处测各孔的 OD 值，记为 $OD_{测定}$、$OD_{对照}$、$OD_{标准}$，计算$\Delta OD_{测定}=OD_{测定}-OD_{对照}$、$\Delta OD_{标准}=OD_{标准}-OD_{空白}$。

注意：每个样本均需要做对照孔。0 μmol/mL 标准孔为空白孔。实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。2. 如果$\Delta OD_{测}$大于浓度为 1.5 μmol/mL 标准品的$\Delta OD_{标}$，则需要用 Extraction Buffer 稀释样本后，重新检测。如果样本的ΔOD 测低于 0.05 μmol/mL 标准品的$\Delta OD_{标}$，可提高样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

标准曲线的绘制：

以标准液浓度为 y 轴，$\Delta OD_{标准}$为 x 轴，绘制标准曲线。将$\Delta OD_{测定}$带入方程计算出 y（μmol/mL）。

1. 血清（浆）GOT 的活性

单位定义：每小时每 mL 血清样品催化产生 1 μmol 丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$GOT(U/mL)=y\times(V_{样本}+V_{Reagent\ I})\div V_{样本}\div T$**$=12y$**

2. 组织、细菌或细胞 GOT 的活性

（1）按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每小时每 mg 组织蛋白催化产生 1 μmol 丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$GOT(U/mg\ prot)=y\times(V_{样本}+V_{Reagent\ I})\div(Cpr\times V_{样本})\div T$**$=12y\div Cpr$**

注意：此法需要自行测定样本蛋白质浓度。

（2）按样本鲜重计算

单位定义：每小时每 g 鲜重样品催化产生 1 μmol 丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$GOT(U/g\ 鲜重)=y\times(V_{样本}+V_{Reagent\ I})\div(W\times V_{样本}\div V_{样总})\div T$**$=12y\div W$**

（3）按细菌或细胞数量计算：

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

$GOT(U/10^4)=y\times(V_{样本}+V_{Reagent\ I})\div(500\div V_{样本}\div V_{样总})\div T$**$=0.024y$**

$V_{样本}$：样本体积，0.005 mL；$V_{Reagent\ I}$：加入 Regent Ⅰ体积，0.025 mL；$V_{样总}$：Extraction Buffer 体积，1 mL；W：样本鲜重，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；T：反应时间，0.5 h；500：细菌或细胞总数量，500 万个。

结果展示

标准曲线的绘制：

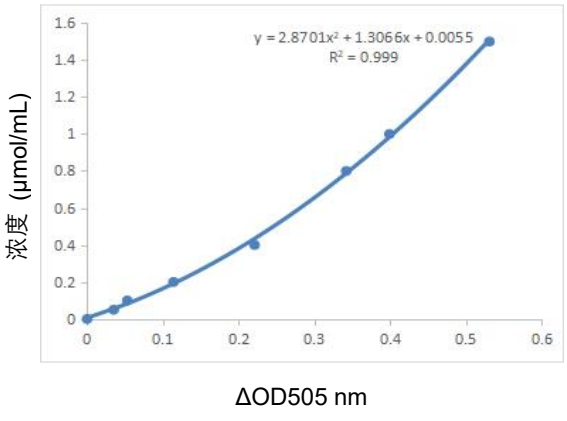


Figure 1. GOT 的标准曲线

Abbkine, Inc • • www.abbkine.com
Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1410	CheKine™谷丙转氨酶（ALT/GPT）活性检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.