



谷草转氨酶/天冬氨酸氨基转氨酶(GOT/AST)试剂盒说明书

(货号: PB1045F48 分光法 48 样)

有效期: 3 个月

测定意义

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, 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。

测定原理

GOT 催化 α -同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 GOT 酶活力。

需自备的仪器和用品

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配制

提取液: 液体 60mL×1 瓶, 4°C 保存。

试剂一: 液体 20 mL×1 瓶, 4°C 保存;

试剂二: 液体 12 mL×1 瓶, 4°C 保存;

试剂三: 液体 120 mL×1 瓶, 4°C 保存;

标准品: 液体 1 mL×1 支, 4°C 避光保存; 标准品浓度为 20 μ mol/ml。使用前将 20 μ mol/mL 标准品溶液使用蒸馏水稀释 10 倍至 2.0 μ mol/mL (取标准品溶液 100 μ l 加蒸馏水 900 μ l, 混匀);

样品测定的准备

1、细胞或微生物样品的制备 :

先收集细胞或微生物样品到离心管内, 弃上清, 按照每 500 万细胞或微生物加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (功率 20%, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次)。3500g, 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2、组织:

称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液进冰浴行匀浆。3500g 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

3、血清(浆)样品: 直接检测。

测定操作表

1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 505nm, 蒸馏水调零。

2、标准曲线的制备 :

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μ mol/mL)	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.05	0
稀释前标准品浓度 (μ mol/mL)	2	2	2	2	2	2	2	2
标准液体积 (μ l)	60	50	40	30	20	10	5	0
蒸馏水体积 (μ l)	140	150	160	170	180	190	195	200

3、在 EP 管中加入下列试剂



试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
待测样本	20		
标准品			120
试剂一	100	100	
混匀后, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 预热 30min			
试剂二	100	100	100
待测样本		20	
混匀后, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 准确反应 20min			
试剂三	1000	1000	1000

混匀, 室温放置 10min, 在 505nm 波长处测各管吸光度 A。ΔA 测定=A 测定管-A 对照管, ΔA 标准=A 标准管-A 空白管 (标准品 0 μ mol/ml)。

GOT 活力计算

标准曲线的绘制以各标准溶液浓度为 x 轴, 以其对应的吸光值 (ΔA 标准) 为 y 轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程 $y=kx+b$, 将 ΔA 测定带入公式中得到 x (μ mol/ml)。

1、血清 (浆) GOT 活力的计算

单位的定义: 每 mL 血清 (浆) 每小时催化产生 1 μ mol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (U/mL)} = x \times (V_{\text{样}} + V_1) \div V_{\text{样}} \div T = 12 \times x$$

2、按样本蛋白浓度计算

单位的定义: 每 mg 组织蛋白每小时催化产生 1 μ mol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (U/mg prot)} = x \times (V_{\text{样}} + V_1) \div V_{\text{样}} \div \text{Cpr} \div T = 12 \times x \div \text{Cpr}$$

3、按样本鲜重计算

单位的定义: 每 g 组织每小时催化产生 1 μ mol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (U/g 鲜重)} = x \times (V_{\text{样}} + V_1) \times V_{\text{样总}} \div V_{\text{样}} \div W \div T = 12 \times x \div W$$

4、按细菌或细胞密度计算

单位的定义: 每 1 万个细菌或细胞每小时催化产生 1 μ mol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (U/10}^4 \text{ cell)} = x \times (V_{\text{样}} + V_1) \times V_{\text{样总}} \div V_{\text{样}} \div 500 \div T = 12 \times x \div 500$$

V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; T: 反应时间, 0.5h; Cpr: 蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万; V 样: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.02 mL; V1: 反应体系中加入试剂一的体积, 0.1 mL

注意事项:

①若测定吸光值超出标准线性吸光范围: 高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行测定; 低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定, 计算时相应修改;