

谷草转氨酶（GOT/AST）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHD2-M48	谷草转氨酶(AST)试剂盒	48T	微量法
AMHD2-M96		96T	微量法

一、测定意义：

谷草转氨酶又叫天门冬氨酸氨基转移酶（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。

二、测定原理：

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 GOT 酶活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	液体 10 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	液体 10 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂三	液体 25 mL×1 瓶	液体 50 mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2~8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌/细胞：按照细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴

超声波破碎细胞（功率 200W，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 5min）；然后 10000g，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂一于 37℃温浴 5min 后使用。
- 3、临用前在标准品粉剂中加入 1mL 蒸馏水得到 100 μ mol/mL 的标准液，再将 100 μ mol/mL 的标准液用蒸馏水稀释 50 倍得到 2 μ mol/mL 的标准液，随后将 2 μ mol/mL 的标准液稀释成 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.2、1.6 μ mol/mL 标准液进行标准曲线的制备，详见附录 I。

4、操作表（在离心管中加入以下试剂）

试剂名称	对照管	测定管	标准管	空白管
粗酶液（ μ L）	10	10	-	-
试剂一（ μ L）	-	40	-	-
混匀各管，于 37℃恒温水浴锅内，准确保温 30min				
蒸馏水（ μ L）	-	-	-	10
不同浓度标准液（ μ L）	-	-	10	-
试剂一（ μ L）	40	-	40	40
试剂二（ μ L）	40	40	40	40
混匀各管，于 37℃恒温水浴锅内，保温 20min				
试剂三（ μ L）	200	200	200	200
混匀各管，5min 后，取 200 μ L 于 96 孔板中，30min 内于 505nm 波长，空白管调零，酶标仪读取各管吸光度，分别记为 $A_{\text{测定管}}$ ， $A_{\text{对照管}}$ ， $A_{\text{标准管}}$ ， $A_{\text{空白管}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ； $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。				

五、谷草转氨酶活性计算：

1.标准曲线的绘制：以各标准溶液浓度为 x 轴，以 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 y 轴做标准曲线，得到方程 $y=kx+b$ 。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程求 x 值（ μ mol/mL）。

2.GOT 活性计算：

（1）按样本质量计算：

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

计算公式：
$$\text{GOT (U/g)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂-}}) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样本}}) \div T \times F = 10 \times x \div W \times F$$

(2) 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 μ mol 丙酮酸的量为一个 GOT 活性单位。

计算公式：
$$\text{GOT (U/mg prot)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂-}}) \div (Cpr \times V_{\text{样本}}) \div T \times F = 10 \times x \div Cpr \times F$$

(3) 按血清（浆）体积计算：

单位定义：每小时每 mL 血清样本催化产生 1 μ mol 丙酮酸的量为一个 GOT 活性单位。

计算公式：
$$\text{GOT (U/mL)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂-}}) \div V_{\text{样本}} \div T \times F = 10 \times x \times F$$

(4) 按细菌或细胞数量计算：

单位定义：每小时每 10⁶ 细菌或细胞催化产生 1 μ mol 丙酮酸的量为一个 GOT 活性单位。

计算公式：
$$\text{GOT (U/10}^6 \text{ cell)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂-}}) \div (N \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样本}}) \div T \times F = 10 \times x \div Cpr \times F$$

$V_{\text{样本}}$ ：吸取样本体积，0.01mL； $V_{\text{试剂-}}$ ：吸取试剂一体积，0.04mL；

$V_{\text{样本}}$ ：吸取提取液体积，1mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；T：反应时间，0.5h；N：细胞或细菌总数，以百万计。

六、注意事项：

1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本，稀释成不同浓度进行预试，以选取最佳取样浓度；

2、若对照孔 OD 值减去测定孔 OD 值高于 0.4 时，可将样本用提取液进行稀释，计算时乘以相应的稀释倍数即可；若测定孔 OD 值减去对照孔 OD 值低于 0.01 时，可以增加样本取样量或者取样浓度。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日