

## 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，临幊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 $\alpha$ -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<sup>4</sup> 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 100μmol/mL 的标准液，再将 100μmol/mL 的标准液用蒸馏水稀释 50 倍得到 2μmol/mL 的标准液，随后将 2μmol/mL 的标准液稀释成 0、0.2、0.4、0.6、0.8、

1.2、1.6 μmol/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 (μL)	10	10	-	-
试剂一 (μL)	-	40	-	-
混匀各管，于 37℃恒温水浴锅内，准确保温 30min				
蒸馏水 (μL)	-	-	-	10
不同浓度标准液 (μL)	-	-	10	-
试剂一 (μL)	40	-	40	40
试剂二 (μL)	40	40	40	40
混匀各管，于 37℃恒温水浴锅内，保温 20min				
试剂三 (μL)	200	200	200	200
混匀各管，5min 后，取 200μL 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 <sub>测定管</sub> , A <sub>对照管</sub> , A <sub>标准管</sub> , A <sub>空白管</sub> ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ ; $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。				

#### 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  $\Delta A_{标准}$  为 y 轴做标准曲线，得到方程  $y=kx+b$ 。将  $\Delta A_{测定}$  带入方程求 x 值 (μmol/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 $\mu\text{mol}$  丙酮酸的量为一个 GOT 活性单位。

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

(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 $\mu\text{mol}$  丙酮酸的量为一个 GOT 活性单位。

**计算公式:** 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 $\mu\text{mol}$  丙酮酸的量为一个 GOT 活性单位。

**计算公式:** 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  $10^6$  细菌或细胞催化产生 1 $\mu\text{mol}$  丙酮酸的量为一个 GOT 活性单位。

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

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

$V_{\text{样总}}$ : 吸取提取液体积, 1mL;  $W$ : 样本质量, g;  $Cpr$ : 样本蛋白浓度, 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