



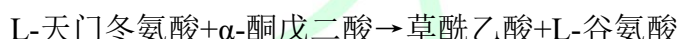
上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## 天门冬氨酸氨基转移酶(AST)检测试剂盒(赖氏比色法)

### 简介:

转氨酶是催化 $\alpha$ -氨基酸和 $\alpha$ -酮酸之间氨基转换反应的一组酶, 天门冬氨酸氨基转移酶(AST)旧称谷草转氨酶(GOT)主要存在于心肌、骨骼肌、肝脏, 以心肌含量最高, 肝脏次之, AST 能够催化天门冬氨酸和  $\alpha$ -酮戊二酸的氨基转移作用, 形成谷氨酸和草酰乙酸。

源叶生物 天门冬氨酸氨基转移酶(AST)检测试剂盒(赖氏比色法)其检测原理是 AST 催化天门冬氨酸与 $\alpha$ -酮戊二酸之间的氨基转移反应, 在 AST 催化下, 其反应公式如下:



二硝基苯肼与 $\alpha$ -酮酸反应生成相应的二硝基苯腙, 在碱性条件下二硝基苯腙的吸收光谱有差异, 通过分光光度计检测在 500~520nm 处差异最大, 以等摩尔浓度计算出丙酮酸的生成量, 进而计算酶的活性。100T 该试剂盒可检测 50 个样品(不含标准品), 该试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

### 组成:

名称 \ 编号	R21819 100T	Storage
试剂(A): 丙酮酸标准	22mg	RT
试剂(B): 丙酮酸标准稀释液	5ml	RT
试剂(C): 标准对照液	2ml	4℃
试剂(D): AST Assay buffer	30ml	4℃ 避光
试剂(E): 二硝基苯肼显色液	30ml	4℃ 避光
试剂(F): AST 显色基液(5×)	50ml	RT
使用说明书	1 份	



## 自备材料:

- 1、蒸馏水或去离子水
- 2、离心管、水浴锅或恒温箱
- 3、比色杯、分光光度计

## 操作步骤(仅供参考):

### 1、准备样品:

①血浆、血清样品: 血浆、血清按照常规方法制备, 可以直接用于本试剂盒的测定,  $-20^{\circ}\text{C}$  保存 1 个月有效, 用于 AST/GOT 的检测。

②细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织进行匀浆, 低速离心取上清,  $-20^{\circ}\text{C}$  保存 1 个月有效, 用于 AST/GOT 的检测。

③(选做)样品准备完毕后可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度, 以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的 AST/GOT 含量。

2、配制 AST 显色基液( $1\times$ ): 取 AST 显色基液( $5\times$ )一份加入蒸馏水 4 份稀释即可使用。

3、制作 AST 标准曲线: 取丙酮酸标准 1 支, 准确加入丙酮酸标准稀释液 1ml, 充分混匀, 即配制成丙酮酸标准( $100\text{mmol/L}$ ),  $4^{\circ}\text{C}$  保存备用。临用前, 取适量的丙酮酸标准( $100\text{mmol/L}$ ), 按丙酮酸标准( $100\text{mmol/L}$ ): 丙酮酸标准稀释液=1: 49 的比例混合, 即为丙酮酸标准工作液-丙酮酸标准( $2\text{mmol/L}$ ), 按下表制备标准曲线。最好设定平行检测管, 求平均值。

加入物( $\mu\text{l}$ )	0	1	2	3	4
丙酮酸标准( $2\text{mmol/L}$ )	0	20	40	60	80
标准对照液	40	40	40	40	40
AST Assay buffer	200	180	160	140	120
相当于 AST/GOT(卡门单位)	0	24	61	114	190

混匀, 向各管中加入二硝基苯肼显色液  $0.2\text{ml}$ ,  $37^{\circ}\text{C}$  孵育 20min 后加入 AST 显色基液( $1\times$ ) $2\text{ml}$ , 混匀。室温放置 5min, 以蒸馏水调零, 比色杯光径  $1\text{cm}$ , 分光光度计  $505\text{nm}$  处测定各管(0~4 号)吸光度。各管吸光度均减去“0”



号管吸光度, 所得吸光度差值(纵坐标)与对应的卡门酶活力单位(横坐标)作图。

4、AST 酶促反应: 按照下表设置对照管、测定管, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。如果样品中的酶活性过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。

加入物(ml)	对照管	测定管
待测样品(如血清等)	0.04	0.04
AST Assay buffer	—	0.2
混匀, 37℃ 孵育 60min。		
AST Assay buffer	0.2	—
二硝基苯肼显色液	0.2	0.2
混匀, 37℃ 孵育 20min。		
AST 显色基液(1×)	2	2

5、AST 测定: 混匀, 室温放置 5min, 以蒸馏水调零, 比色杯光径 1cm, 分光光度计 505nm 处测定对照管和测定管的吸光度(记为  $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ )。

### 计算:

以标准活力单位(24、61、114、190)为横坐标, 以对应的吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 测定管的吸光度减去对照管的吸光度的差值(即  $A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ), 从标准曲线查得 AST 活力单位。

**参考范围:** 成年健康人血清 AST: 8~28 卡门单位/ml

### 注意事项:

- 1、二硝基苯肼显色液溶解以后, 如果仍然有结晶析出, 应弃用。
- 2、AST 显色基液(5×)有一定腐蚀性, 请小心操作。
- 3、AST Assay buffer 使用前应 37℃ 提前孵育 5min。
- 4、由于赖氏法的特点, 在绘制标准曲线时每个点最好做 3 管的重复测定,



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: shyysw@sina.com

求出各标准管的吸光度均值，减去“0”号管吸光度均值后，对照赖氏单位绘制标准曲线。

5、血清中 AST 活性在室温可以保存 2 天，4℃ 保存 1 周，-20℃ 保存 1 个月。

6、成批样品测定时，一般无需每份样本都做自身血清对照，以试剂空白管代替即可。

7、对于超过正常范围的血清样品，应该进行复测，复测时每份样本都应做自身血清对照。

8、严重黄疸、脂血或溶血的血清，可能会引起测定管吸光度增高，因此检测该类样品时应做自身血清标本对照。

9、当样品的酶活力大于 190 卡门单位时，应将样本进行 5~10 倍稀释后再行测定。

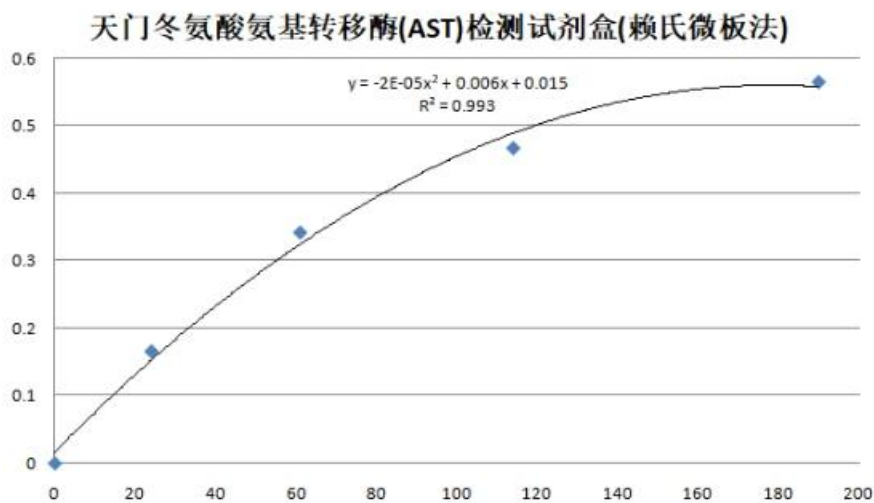
10、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**6 个月有效。4℃ 运输，4℃ 保存。

**附录：**参考标准曲线：通过酶标仪 505nm 测定不同丙酮酸标准浓度所对应的卡门单位其吸光度多在 0.15~0.6 之间，加入 AST 显色基液(1×)后其颜色依次为黄色至棕红色，应及时检测，随着时间的延长其颜色会加深。测定卡门单位为 0、24、61、114、190 对应的吸光度，据此作出标准曲线如下：



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算 AST 含量的，可以采用标准曲线进行多点重复测定；根据测定经验显示样品酶活力大于 190 卡门单位以上，标准曲线会有偏差。

