



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  
邮箱: shyysw@sina.com

## 天门冬氨酸氨基转移酶(AST)活性检测试剂盒（微板法）

货号: R41132

规格: 96T

保存温度: 2-8℃保存, 有效期 6 个月。

### 产品简介:

天冬氨酸氨基转移酶, 俗称谷草转氨酶, 缩写为 AST 或 GOT (EC 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。

谷草转氨酶/天冬氨酸氨基转氨酶(GOT/AST)催化天门冬氨酸和 $\alpha$ -同戊二酸发生转氨基反应, 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, 在碱性溶液中显棕红色; 通过在 520nm 读取吸光值并计算出该酶活力大小。

### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求
提取液	液体 100mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 4mL×1 支	2-8℃保存
试剂二	液体 4mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 40mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉末×1 支	2-8℃保存

### 使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费。

#### 一、样本准备:

##### 1. 组织样本准备:



(a) 称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆；

(b) 12000rpm 4℃ 离心 10min 后取上清，置于冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本准备：

(a) 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；

(b) 取约  $5 \times 10^6$  个细菌或细胞加入 1mL 提取液；超声波破碎细菌或细胞（冰浴，200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；

(c) 12000rpm 4℃ 离心 10min 后取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，按照每  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 血清（浆）样本：

直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

二、样品测定：

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 520nm。

2. 可先做 2 个样本预测定，熟悉操作过程，并依据测出的吸光值 A 是否超出标准曲线的线性范围来做调整。

3. 在 96 孔板中依次加入：

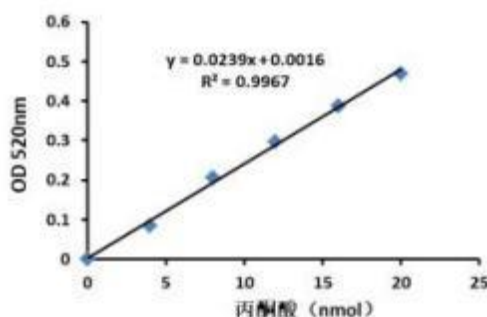
试剂名称(μL)	测定管	对照管
样本	10	-
试剂一	20	20
混匀，于 37℃ 孵育 30min		
试剂二	20	20
样本	-	10
混匀，于 37℃ 孵育 10min		
试剂三	200	200
混匀，25℃ 孵育 10min，于 520nm 处测定吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

【注】1.若 A 测定超过 1.2，可降低样本量 V1（如 5μL，另外 5μL 用蒸馏水补齐，总体积 10μL 保持不变）。则改变后的加样体积 V1 需代入计算公式重新计算。

2.若 ΔA 的值在零附近徘徊，则可增加样本量 V1（如 15μL，则试剂一相应减少），或增加样本取样质量（W），则改变后的加样体积 V1 和取样质量 W 需代入计算公式重新计算。

### 三、含量计算

1. 标准曲线方程：y = 0.0239x + 0.0016，x 为标准品摩尔质量（nmol），y 是 ΔA。



2. 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1 nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GOT/AST}(\text{nmol/min/mg prot}) &= [(\Delta A - 0.0016) \div 0.0209] \div (V1 \times Cpr) \div T \\ &= 139.5 \times (\Delta A - 0.0016) \div Cpr \end{aligned}$$

3. 按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GOT/AST}(\text{nmol/min/g 鲜重}) &= [(\Delta A - 0.0016) \div 0.0209] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 139.5 \times (\Delta A - 0.0016) \div W \end{aligned}$$

4. 按细菌或细胞数量计算：

酶活定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GOT/AST}(\text{nmol/min}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A - 0.0016) \div 0.0209] \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ &= 0.28 \times (\Delta A - 0.0016) \end{aligned}$$



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  
邮箱: shyysw@sina.com

## 5. 血清（浆）活力计算：

酶活定义：每毫升血清（浆）每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT/AST}(\text{nmol/min/mL})=[(\Delta A-0.0016)\div 0.0209]\div V1\div T=139.5\times(\Delta A-0.0016)$$

V---加入提取液体积，1 mL

V1---加入样本体积，0.01mL

T---反应时间，30 min

W---样品质量，g

500---细胞或细菌总数，万

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（20 $\mu\text{mol/mL}$ ）：加 1mL 蒸馏水溶解标准品，充分混匀。
2. 把母液稀释成以下浓度：0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际来调整浓度。
3. 10 $\mu\text{L}$  标准品+20 $\mu\text{L}$  试剂一+20 $\mu\text{L}$  试剂二，混匀，于 37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 10min；再加 200 $\mu\text{L}$  试剂三，混匀，25 $^{\circ}\text{C}$  孵育 10min，于 520nm 处测定吸光值 A，依据结果即可制作标准曲线。

## 注意事项：

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。