

谷草转氨酶 (AST/GOT) 试剂盒 (微板法)

96T WLA118



仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

产品名称 谷草转氨酶 (AST/GOT) 试剂盒 (微板法)

产品概述 AST/GOT能使 α -酮戊二酸和天门冬氨酸转换氨基和酮基,生成谷氨酸和草酰乙酸。草酰乙酸在反应过程中可自行脱羧成丙酮酸。丙酮酸与2,4-二硝基苯肼反应生成2,4-二硝基苯腙,在碱性溶液中显红棕色。比色后,查标准曲线,可求得酶活力单位。

包装信息

试剂名称	WLA118 (96T)	保存条件
基质缓冲液	5ml	4°C, 避光
2,4-二硝基苯肼	5ml	4°C, 避光
4mol/L NaOH 溶液	5ml	室温密封
2mmol/L 丙酮酸钠标准液	1支	4°C
0.1mol/L 磷酸盐缓冲液	1支	4°C

保存日期 本试剂盒自订购之日起6个月内有效。

操作流程

1. 试剂配制:

0.4mol/L NaOH 溶液的配制: 临时时按4mol/L NaOH 溶液: 双蒸水=1: 9 的比例稀释, 需多少配多少, 室温密封保存。

2. 操作表:

试剂名称	测定管	对照管
待测样本 (μ l)	5	
基质液 (μ l) 37°C 已预温	20	20

测定孔每吸取一个样本, 将吸嘴伸入孔板底部基质液中, 反复吸打混匀后37°C水浴或气浴30分钟

2,4-二硝基苯肼 (μ l)	20	20
待测样本 (μ l)		5

对照孔每吸取一个样本, 将吸嘴伸入孔板底部液体中, 反复吸打混匀后37°C水浴或气浴20分钟

0.4mol/L NaOH (μ l)	200	200
--------------------------	-----	-----

轻轻水平摇动96孔板混匀, 室温放置15分钟, 510nm波长, 酶标仪测各孔OD值, 以(绝对OD值=测定孔OD值-对照孔OD值), 查标准曲线, 求得相应的AST/GOT活力单位。

注意事项

1. 严重脂血、黄疸或溶血血清可能会引起测定管吸光度增加, 因此, 检测此类标本时, 应该做血清标本对照管。
2. 一般血清标本内源性丙酮酸很少, 血清对照管吸光度值接近试剂空白管(以0.1ml蒸馏水代替血清, 其他和对照管同样操作)。所以, 成批标本测定时, 一般不需要每一标本都作本身血清对照管, 以试剂空白管代替即可, 但对超过正常的血清标本应进行复查, 复查时, 每份标本应作对照管。
3. 当血清标本酶活力超过150卡门氏单位时, 应将血清用生理盐水稀释5倍或10倍后进行测定。
4. 加入2,4-二硝基苯肼溶液后, 应充分混匀, 使反应完全, 加氢氧化钠溶液方法要一致, 不同方法会导致吸光度读数的差异。
5. 比色法中常用的有赖氏法及金氏法。赖氏法标准曲线所定单位数, 使用实验方法和卡门氏分光光度法作对比测定求得的。以卡门氏单位报告结果, 比较准确。

谷草转氨酶 (AST/GOT) 试剂盒 (微板法)

96T WLA118



仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

卡门氏单位定义: 1ml血清, 反应液总容量3ml, 340nm波长, 1cm光径, 25°C, 1min内所生成的丙酮酸, 使NADH氧化成NAD⁺而引起吸光度每下降0.001为一个卡门氏单位。

6. 血清中AST/GOT在室温 (25°C) 可保存2天, 在0~4°C可保存一周, 在-25°C可保存一个月。

7. 1卡门氏单位=0.482IU/L, 25°C

组织GOT活力计算公式:

$$\text{组织GOT活力 (U/gprot)} = \frac{\text{通过标准曲线得匀浆液GOT活力 (U/L)}}{\text{匀浆蛋白浓度 (gprot/L)}}$$

附标准曲线制备:

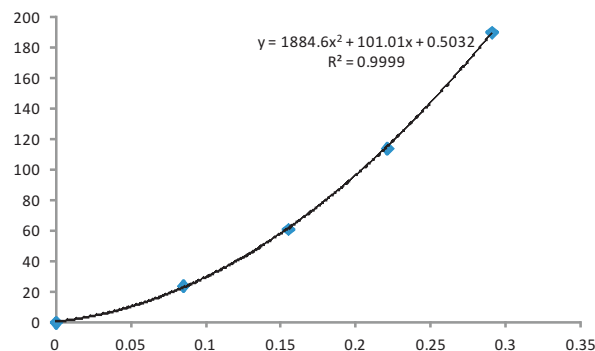
管号	0	1	2	3	4
0.1mol/L磷酸盐缓冲液 (μl)	5	5	5	5	5
2mmol/L丙酮酸钠标准液 (μl)	0	2.5	5	7.5	10
基质缓冲液 (μl)	20	17.5	15	12.5	10
2,4-二硝基苯肼 (μl)	20	20	20	20	20

每孔每吸取一个标准, 将吸嘴伸入孔板底部液体中, 反复吸打混匀后37°C水浴或气浴20分钟

0.4mol/L NaOH 溶液 (μl)	200	200	200	200	200
-----------------------	-----	-----	-----	-----	-----

轻轻水平摇动96孔板混匀, 室温放置15分钟, 510nm波长, 酶标仪测各孔OD值, 各孔吸光度减去零孔吸光度, 所得差值为绝对OD值, 以绝对OD值作为横坐标, 相应的卡门氏单位为纵坐标, 作坐标图拟合公式, 直接在Excel表中用公式计算样本中的AST酶活性。

相当于酶活力卡门氏单位	0	24	61	114	190
绝对吸光度参考值 (ml)	0	0.085	0.155	0.221	0.291



附肝脏样本前处理:

准确称取组织重量, 按重量 (g) : 体积=1: 9 的比例, 加入9倍体积的生理盐水, 冰水条件下机械匀浆, 制备成10%的组织匀浆, 2500转/分, 离心10分钟, 取上清液, 再用生理盐水10倍稀释成1%的浓度待测。(同时取部分上清液测蛋白浓度, 蛋白定量试剂盒本公司有售, 货号为WLA004)