

血中谷草转氨酶/天冬氨酸氨基转氨酶(GOT/AST)试剂盒说明书

(货号: ADS-W-D029 微板法 96 样)

一、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 α -同戊二酸发生转氨基反应, 生成谷氨酸和草酰乙酸, 草酰乙酸和还原型辅酶I (NADH) 在苹果酸脱氢酶 (MDH) 的催化作用下生成 L-苹果酸和辅酶I, 还原型辅酶I (NADH) 消耗的速率与样品中天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 的活性成正比, 通过测定 340nm 处吸光度的变化率, 即可得到样品中天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 的活性。

二、试剂盒组成和配制:

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 | 备注 |
|------|--------------|-------|--------|
| 试剂一 | 液体 20mL×1 瓶 | 4°C保存 | |
| 试剂二 | 液体 5mL×1 瓶 | 4°C保存 | |
| 标准管 | 液体 0.2mL×1 支 | 4°C保存 | 浓度见标签。 |

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、可调式移液器、研钵。

四、谷草转氨酶/天冬氨酸氨基转氨酶(GOT/AST)活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 血清(浆)样本: 血清、肝素或 EDTA 抗凝血浆。不可使用溶血标本。

三天内的活性损失: 2°C-8°C保存: < 8%; 15°C-25°C保存: < 10%;

样本稳定性: -20°C保存可稳定 4 周; 当样本中胆红素浓度 $\leq 1026\text{mmol/L}$ 、甘油三酯浓度 $\leq 11.4\text{mmol/L}$ 、血红蛋白浓度 $\leq 100\text{mg/dL}$ 时没观察到明显干扰。

2、上机测定:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm。

② 在 96 孔板中依次加入:

| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 标准管 (仅做一次) |
|---|-----|---------------|
| 样本 | 10 | |
| 标准品 | | 10 |
| 试剂一 | 200 | 200 |
| 37°C条件下, 孵育 5min。 | | |
| 试剂二 | 50 | 50 |
| 混匀, 37°C条件下, 30s 时于 340nm 处读取吸光值 A1, 5min30s 时读取 A2。 $\Delta A = A1 - A2$ 。 | | |

【注】: 1. 若 ΔA 大于 0.6, 可用生理盐水或蒸馏水对样本进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若 ΔA 值小于 0.01, 可增加样本加样体积 V1 (如 10 μL 增至 20 μL , 标准管也由 10 μL 增至 20 μL , 其他试剂均保持不变)。

或者测定管和标准管和空白管均增加至 10min30s 时读取 A2 值, 则重新计算 ΔA 并代入计算。

五、结果计算：

1、血清（浆）活力计算：

$$\text{GOT/AST(U/L)} = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{V1} \times \text{D} = \text{C 标准} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times \text{D}$$

C 标准---标品浓度，见标签；

V1---加入样本体积，0.01mL；

V2---加入标准品体积，0.01mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

精密度---重复性 CV 不大于 5%；批间相对极差 R 不大于 10%。

准确度---相对偏差为不超过 15%。