

谷草转氨酶（GOT/AST）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: BC1560

规格: 50T/24S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	粉剂×2 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 8 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 80 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准液	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

溶液的配制:

- 1、试剂一: 临用前每瓶用 4 mL 蒸馏水溶解; 现用现配;
- 2、标准液: 20 $\mu\text{mol/mL}$ 丙酮酸钠。

产品说明:

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, 临床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。

GOT催化 α -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酶活力。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1、细胞或细菌样本的制备:

先收集细胞或细菌样本到离心管内, 弃上清, 按照每 500 万细胞或细菌加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (功率 20%, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次)。3500g, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2、组织: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆。3500g, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

3、血清 (浆) 样本: 直接检测。

二、测定步骤

1、分光光度计预热30min以上, 调节波长至505nm, 蒸馏水调零。

2、标准曲线的测定：首先将标准品用蒸馏水稀释至2 $\mu\text{mol/mL}$ ，按下表混合标准品和试剂一得到相应浓度标准管：

标准品 (μL)	试剂一 (μL)	标准管浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)
90	30	1.5
60	60	1
48	72	0.8
24	96	0.4
12	108	0.2
6	114	0.1
3	117	0.05
0	120	0

3、在 EP 管中加入下列试剂

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
待测样本	20		
试剂一	100	100	
标准液			120

混匀后，37 $^{\circ}\text{C}$ （哺乳动物）或25 $^{\circ}\text{C}$ （其它物种）反应30min

试剂二	100	100	100
待测样本		20	

混匀后，37 $^{\circ}\text{C}$ （哺乳动物）或25 $^{\circ}\text{C}$ （其它物种）准确水浴20min

试剂三	1000	1000	1000
-----	------	------	------

混匀，室温放置10min，在505nm波长处，测各管吸光度。

注：0 $\mu\text{mol/mL}$ 标准管为空白管。

三、GOT 活性计算

1. 标准曲线的绘制：以各标准溶液浓度为x轴，以 ΔA （A标准管-A空白管）为y轴做标准曲线，得到方程 $y=kx+b$ 。
将（A测定管-A对照管）带入方程求x值。

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 μmol 丙酮酸的量为一个GOT活力单位。

$$\text{GOT (U/g 质量)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 12x \div W$$

（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 μmol 丙酮酸的量为一个GOT活力单位。

$$\text{GOT (U/mg prot)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 12x \div C_{\text{pr}}$$

（3）按血清体积计算：

单位定义：每小时每mL血清样本催化产生1 μmol 丙酮酸的量为一个GOT活力单位。

$$\text{GOT (U/mL)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div V_{\text{样本}} \div T = 12x$$

(4) 按细胞数量计算:

单位定义: 每小时每 10^4 个细胞样本催化产生 $1\mu\text{mol}$ 丙酮酸的量为一个GOT活力单位。

$$\text{GOT (U/10}^4 \text{ cell)} = x \times (\text{V样本} + \text{V试剂一}) \div (\text{V样本} \div \text{V样总} \times 500) \div \text{T} = 0.024x$$

V样本: 吸取样本体积, 0.02mL; V试剂一: 吸取试剂一体积, 0.1mL; V样总: 吸取提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; T: 反应时间, 0.5h; 500: 细胞或细菌数量, 500万。

实验实例:

1. 取 0.1g 兔子肝脏组织加入 1mL 提取液进行匀浆研磨, 取上清后再按照测定步骤操作, 测得 A 测定管=0.782, A 对照管=0.488, 标准曲线 $y=0.4767x+0.0611$, 计算 $\Delta A=A$ 测定管-A 对照管=0.782-0.488=0.294, $x=(0.294-0.0611) \div 0.4767=0.489$, 按样本质量计算酶活得:
 $\text{GOT (U/g 质量)} = 12x \div W = 12 \times 0.489 \div 0.1 = 58.68 \text{ U/g 质量}$ 。

相关发表文献:

- [1] Yong Li, Fengjun Cao, Mingxing Li, et al. Hydroxychloroquine induced lung cancer suppression by enhancing chemo-sensitization and promoting the transition of M2-TAMs to M1-like macrophages. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. October 2018;(IF5.646)
- [2] Poopal R K, Zhang J, Zhao R, et al. Biochemical and behavior effects induced by diheptyl phthalate (DHpP) and Diisodecyl phthalate (DIDP) exposed to zebrafish[J]. Chemosphere, 2020: 126498.

参考文献:

- [1] 赵维信, 魏华贾. 镉对罗氏沼虾组织转氨酶活性及组织结构的影响[D]. 1995.
- [2] Ohgami N, Upadhyay S, Kabata A, et al. Determination of the activities of glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase in a microfluidic system[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2007, 22(7): 1330-1336.

相关系列产品:

- BC0180/BC0185 半胱氨酸 (Cys) 含量检测试剂盒
- BC1580/BC1585 谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒
- BC0250/BC0255 羟脯氨酸 (HYP) 含量检测试剂盒

