

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 有效期: 3 个月)

一、指标介绍:

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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准管	粉剂 1 支	4℃避光保存	每支: 1. 临用前 8000g 4℃离 2min 使试剂落入管底; 2. 加 0.2ml 蒸馏水, 一周内用完, 配成的浓度见标签。

三、实验器材:

研钵 (匀浆机)、天平、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅 (烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本 (例如不同类型或分组) 进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

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℃-8℃保存: < 8%; 15℃-25℃保存: < 10%;

样本稳定性: -20℃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、检测步骤:

① 酶标仪预热 30min (等待仪器过自检程序亦可), 设定波长到 340nm。

② 在 96 孔板中依次加入:

试剂组分 (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。ΔA = 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 10μL 增至 20μL，标准管也由 10μL 增至 20μL，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%。