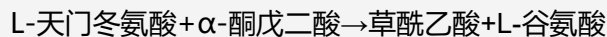


天门冬氨酸氨基转移酶(AST)检测试剂盒(赖氏比色法)

产品简介:

转氨酶是催化 α -氨基酸和 α -酮酸之间氨基转换反应的一组酶, 天门冬氨酸氨基转移酶(AST)旧称谷草转氨酶(GOT)主要存在于心肌、骨骼肌、肝脏, 以心肌含量最高, 肝脏次之, AST能够催化天门冬氨酸和 α -酮戊二酸的氨基转移作用, 形成谷氨酸和草酰乙酸。

Leagene 天门冬氨酸氨基转移酶(AST)检测试剂盒(赖氏比色法)其检测原理是 AST 催化天门冬氨酸与 α -酮戊二酸之间的氨基转移反应, 在 AST 催化下, 其反应公式如下:



二硝基苯胍与 α -酮酸反应生成相应的二硝基苯腙, 在碱性条件下二硝基苯腙的吸收光谱有差异, 通过分光光度计检测在 500~520nm 处差异最大, 以等摩尔浓度计算出丙酮酸的生成量, 进而计算酶的活性。100T 该试剂盒可检测 50 个样品(不含标准品), 该试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	编号	TE0133 100T	Storage
试剂(A): 丙酮酸标准		22mg	RT
试剂(B): 丙酮酸标准稀释液		5ml	RT
试剂(C): 标准对照液		2ml	4°C
试剂(D): AST Assay buffer		30ml	4°C 避光
试剂(E): 二硝基苯胍显色液		30ml	4°C 避光
试剂(F): AST 显色基液(5 \times)		50ml	RT
使用说明书			1 份

自备材料:

- 1、蒸馏水或去离子水
- 2、离心管、水浴锅或恒温箱、比色杯、分光光度计

操作步骤(仅供参考):

1、准备样品:

①血浆、血清样品: 血浆、血清按照常规方法制备, 可以直接用于本试剂盒的测定, -20°C 保存 1 个月有效, 用于 AST/GOT 的检测。

②细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织进行匀浆, 低速离心取上清, -20°C 保存 1 个月

有效，用于 AST/GOT 的检测。

③(选做)样品准备完毕后可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的 AST/GOT 含量。

- 2、配制 AST 显色基液(1×)：取 AST 显色基液(5×)一份加入蒸馏水 4 份稀释即可使用。
- 3、制作 AST 标准曲线：取丙酮酸标准 1 支，准确加入丙酮酸标准稀释液 1ml，充分混匀，即配制成丙酮酸标准(100mmol/L)，4℃保存备用。临用前，取适量的丙酮酸标准(100mmol/L)，按丙酮酸标准(100mmol/L)：丙酮酸标准稀释液=1：49 的比例混合，即为丙酮酸标准工作液-丙酮酸标准(2mmol/L)，按下表制备标准曲线。最好设定平行检测管，求平均值。

加入物(μl)	0	1	2	3	4
丙酮酸标准(2mmol/L)	0	20	40	60	80
标准对照液	40	40	40	40	40
AST Assay buffer	200	180	160	140	120
相当于 AST/GOT(卡门单位)	0	24	61	114	190

混匀，向各管中加入二硝基苯肼显色液 0.2ml，37℃孵育 20min 后加入 AST 显色基液(1×)2ml，混匀。室温放置 5min，以蒸馏水调零，比色杯光径 1cm，分光光度计 505nm 处测定各管(0~4 号)吸光度。各管吸光度均减去“0”号管吸光度，所得吸光度差值(纵坐标)与对应的卡门酶活力单位(横坐标)作图。

- 4、AST 酶促反应：按照下表设置对照管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。

加入物(ml)	对照管	测定管
待测样品(如血清等)	0.04	0.04
AST Assay buffer	-	0.2
混匀，37℃水浴孵育 60min。		
AST Assay buffer	0.2	-
二硝基苯肼显色液	0.2	0.2
混匀，37℃水浴孵育 20min。		
AST 显色基液(1×)	2	2

- 5、AST 测定：混匀，室温放置 5min，以蒸馏水调零，比色杯光径 1cm，分光光度计 505nm 处测定对照管和测定管的吸光度(记为 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$)。

计算：

以标准活力单位(24、61、114、190)为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲

线, 测定管的吸光度减去对照管的吸光度的差值(即 $A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$), 从标准曲线查得 AST 活力单位。

参考范围: 成年健康人血清 AST: 8-28 卡门单位/ml

注意事项:

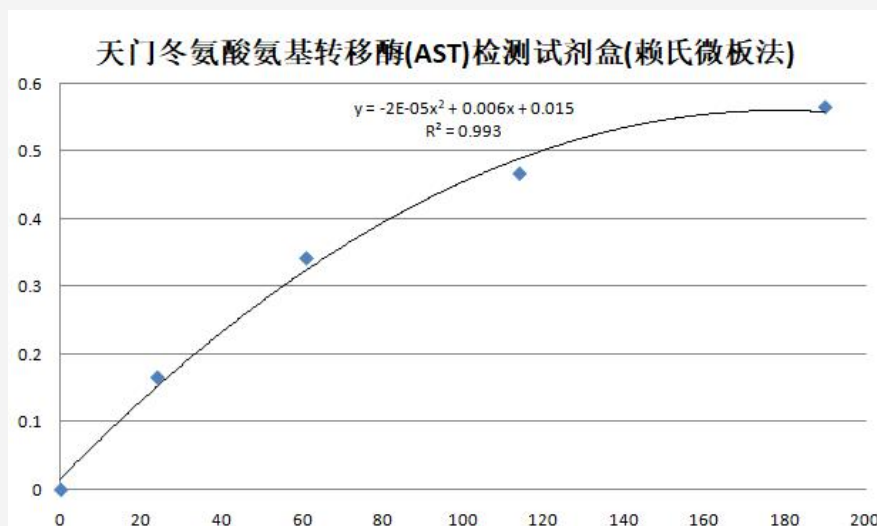
- 1、二硝基苯肼显色液溶解以后, 如果仍然有结晶析出, 应弃用。
- 2、AST 显色基液(5×)有一定腐蚀性, 请小心操作。
- 3、AST Assay buffer 使用前应 37°C 提前孵育 5min。
- 4、由于赖氏法的特点, 在绘制标准曲线时每个点最好做 3 管的重复测定, 求出各标准管的吸光度均值, 减去“0”号管吸光度均值后, 对照赖氏单位绘制标准曲线。
- 5、血清中 AST 活性在室温可以保存 2 天, 4°C 保存 1 周, -20°C 保存 1 个月。
- 6、成批样品测定时, 一般无需每份样本都做自身血清对照, 以试剂空白管代替即可。
- 7、对于超过正常范围的血清样品, 应该进行复测, 复测时每份样本都应做自身血清对照。
- 8、严重黄疸、脂血或溶血的血清, 可能会引起测定管吸光度增高, 因此检测该类样品时应做自身血清标本对照。
- 9、当样品的酶活力大于 190 卡门单位时, 应将样本进行 5~10 倍稀释后再行测定。
- 10、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 11、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。

有效期: 6 个月有效。低温运输, 按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
CA0005	氨苄青霉素溶液(Ampicillin,50mg/ml)
DH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
DP0013	GUS 染色液(即用型)
DZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
NR0003	Lezol(总 RNA 提取试剂)
PE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
TC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)

附录：参考标准曲线：Leagene 通过酶标仪 505nm 测定不同丙酮酸标准浓度所对应的卡门单位其吸光度多在 0.15~0.6 之间，加入 AST 显色基液(1×)后其颜色依次为黄色至棕红色，应及时检测，随着时间的延长其颜色会加深。Leagene 测定卡门单位为 0、24、61、114、190 对应的吸光度，据此作出标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算 AST 含量的，可以采用标准曲线进行多点重复测定；根据 Leagene 测定经验显示样品酶活力大于 190 卡门单位以上，标准曲线会有偏差。