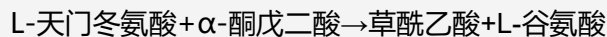


天门冬氨酸氨基转移酶(AST)检测试剂盒(赖氏微板法)

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(赖氏微板法)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, 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, 通过酶标仪检测在 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 该检测试剂盒可检测 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 | TE0131 | Storage |
|-------------------------|----|--------|---------|
| | | 100T | |
| 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 | | 3ml | 4°C 避光 |
| 试剂(E): 二硝基苯胍显色液 | | 3ml | 4°C 避光 |
| 试剂(F): AST 显色基液(5×) | | 5ml | 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、96 孔板、酶标仪

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。最好设定平行检测孔，求平均值。

| | | | | | |
|-------------------|----|----|----|-----|-----|
| 加入物(μl) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 丙酮酸标准(2mmol/L) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| 标准对照液 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| AST Assay buffer | 20 | 18 | 16 | 14 | 12 |
| 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 20μl，37℃孵育 20min 后加入 AST 显色基液(1×)200μl，混匀。室温放置 5min，以蒸馏水调零，酶标仪测定 505nm 处各孔的吸光度。各孔的吸光度均减去“0”号孔的吸光度，所得吸光度的差值(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：按照下表设置对照孔、测定孔，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(μl) | 对照孔 | 测定孔 |
| 待测样品(如血清等) | 4 | 4 |
| AST Assay buffer | - | 20 |
| 混匀，37℃孵育 60min。 | | |
| AST Assay buffer | 20 | - |
| 二硝基苯肼显色液 | 20 | 20 |
| 混匀，37℃孵育 20min。 | | |
| AST 显色基液(1×) | 200 | 200 |

- 5、AST 测定：混匀，室温放置 5min，以蒸馏水调零，酶标仪 505nm 处测定对照孔、测定孔的吸光度(即为 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$)。

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，测定孔的吸光度减去对照孔的吸光度的差值(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：

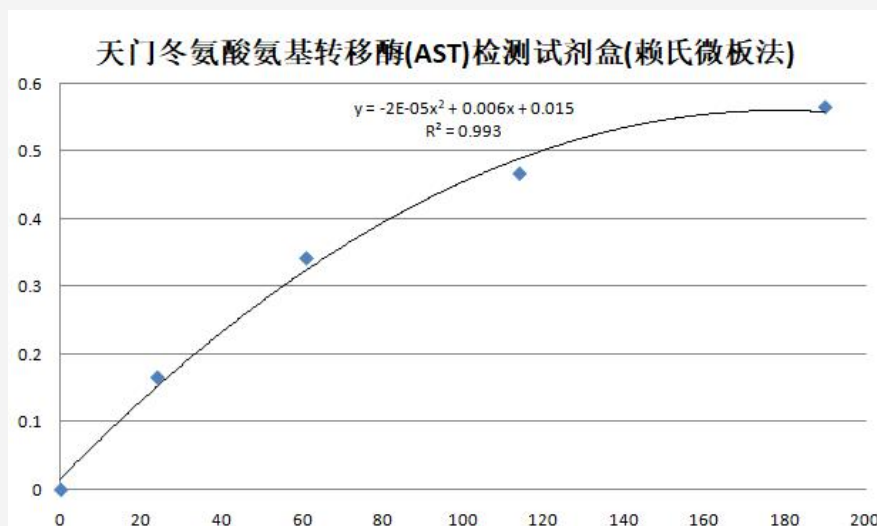
- 1、二硝基苯肼显色液溶解以后，如果仍然有结晶析出，应弃用。
- 2、AST 显色基液(5×)有一定腐蚀性，请小心操作。
- 3、AST Assay buffer 使用前应 37°C 提前孵育 5min。
- 4、由于赖氏法的特点，在绘制标准曲线时每个点最好做 3 孔的重复测定，求出各标准管的吸光度均值，减去“0”号管吸光度均值后，对照赖氏单位绘制标准曲线。
- 5、血清中 AST 活性在室温可以保存 2 天，4°C 保存 1 周，-20°C 保存 1 个月。
- 6、成批样本测定时，一般无需每份样本都做自身血清对照，以试剂空白代替即可。
- 7、对于超过正常范围的血清样本，应该进行复测，复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，可能会引起测定孔的吸光度增高，因此检测该类样本时应做自身血清标本对照。
- 9、当样本的酶活力大于 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。