

谷草转氨酶(GOT)活性测定试剂盒说明书

Glutamic- oxalacetic Transaminase Assay Kit

微量法

货号：AK087

规格：100T/48S

产品清单及储存条件：

编号	规格	储存条件
提取液 ES08	60mL×1 瓶	4℃保存
AK087-A	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加入少量提取液溶解，并调 PH 值为 7.4，然后用提取液定容至 2.5ml，现用现配
AK087-B	3 mL×1 瓶	4℃保存
AK087-C	30 mL×1 瓶	4℃保存
AK087-标准品 (20 μ mol/ml)	1 mL×1 支	4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品简介：

意义：谷草转氨酶 (Glutamic-oxalacetic Transaminase, GOT) (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。

原理：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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

样品制备：

1. 细菌、细胞样品的制备：

细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10⁴ 个）：提取液 ES08 体积 (mL) 为 500~1000:1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液 ES08），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

2. 组织样品的制备：

组织：按照组织质量 (g)：提取液 ES08 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液 ES08），进行冰浴匀浆。8000g 4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

3. 血清（浆）样品：直接检测

检测步骤：

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。
- 标准曲线的稀释：将标准品用蒸馏水稀释至 1 μ mol/mL、0.8 μ mol/mL、0.4 μ mol/mL、0.2 μ mol/mL、0.1 μ mol/mL、0.05 μ mol/mL、0 μ mol/mL。
- 在 EP 管或 96 孔板中按下表加入试剂：

试剂名称(ul)	测定管	对照管	标准管
待测样本	5		

AK087-A	25	25	
标准液			30
混匀后, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 反应 30min			
AK087-B	25	25	25
待测样本		5	
混匀后, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 准确水浴 20min			
AK087-C	240	240	240
混匀, 室温放置 10min, 在 505nm 波长处, 测各管吸光度。 每个测定管需设一个对照管。			

计算公式:

1. 标准曲线的绘制:

以各标准溶液浓度为 x 轴, 以 A505 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. GPT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 $1 \mu\text{mol}$ 丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$$\text{GOT (U/g 质量)} = x \times (V_{\text{样本}} + \text{AK087-A}) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 12x \div W$$

(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 $1 \mu\text{mol}$ 丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$$\text{GOT (U/mg prot)} = x \times (V_{\text{样本}} + \text{AK087-A}) \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样本}}) \div T = 12x \div \text{Cpr}$$

(3) 按血清(浆)体积计算:

单位定义: 每小时每 mL 血清(浆)样本催化产生 $1 \mu\text{mol}$ 丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$$\text{GOT (U/mL)} = x \times (V_{\text{样本}} + \text{AK087-A}) \div V_{\text{样本}} \div T = 12x$$

(4) 按细胞或细菌数量计算:

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

$$\text{GOT (U/10}^4 \text{ cell)} = x \times (V_{\text{样本}} + \text{AK087-A}) \div (500 \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.024x$$

V 样本: 0.005mL; AK087-A: 0.025mL; V 样总: 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: 细胞或细菌总数, 500 万。