

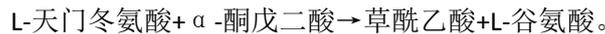
天门冬氨酸氨基转移酶(AST)检测试剂盒(赖氏比色法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

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。

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胺，在碱性条件下二硝基苯胺的吸收光谱有差异，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	规格	保存条件
天门冬氨酸氨基转移酶(AST)检测试剂盒	100T	4℃
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℃
试剂(D):AST Assay buffer	30ml	4℃避光
试剂(E):二硝基苯胍显色液	30ml	4℃避光
试剂(F):AST显色基液	250ml	RT
使用说明书	1份	
有效期	6个月	

自备材料:

- 1、蒸馏水
- 2、离心管
- 3、水浴锅或恒温箱
- 4、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 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、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°C 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(37°C 提前孵育 5min)	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°C 孵育 60min 后加入 AST 显色基液 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。

3、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(37°C 提前孵育 5min)	-	0.2
混匀, 37°C 水浴孵育 60min。		
AST Assay buffer(37°C 提前孵育 5min)	0.2	-
二硝基苯肼显色液	0.2	0.2
混匀, 37°C 水浴孵育 20min。		
AST 显色基液	2	2

4、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 对照、A 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 测定-A 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、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。
- 3、血清中 AST 活性在室温可以保存 2 天, 4℃保存 1 周, -20℃保存 1 个月。
- 4、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。
- 5、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。
- 6、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。
- 7、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。
- 8、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。