

天门冬氨酸氨基转移酶（AST）检测试剂盒（赖氏比色法）

产品货号：BA1709

产品规格：100T

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)其检测原理是天门冬氨酸氨基转移酶(AST)催化天门冬氨酸与 α -酮戊二酸之间的氨基转移反应，在ALT催化下，其反应公式如下： $L\text{-天门冬氨酸} + \alpha\text{-酮戊二酸} \rightarrow \text{草酰乙酸} + L\text{-谷氨酸}$ 。

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：

产品名称	100T	保存条件
试剂(A): 丙酮酸标准	22mg	室温
试剂(B): 丙酮酸标准稀释液	5ml	室温
试剂(C): 标准对照液	2ml	2-8℃
试剂(D): AST Assay buffer	30ml	2-8℃，避光
试剂(E): 二硝基苯胍显色液	30ml	2-8℃，避光
试剂(F): AST显色基液	250ml	室温

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℃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℃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. 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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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(μ l)	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	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60min。		
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ALT活性在室温可以保存2天, 4°C保存1周, -20°C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。

有效期: 6个月有效。4°C运输, 4°C保存。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com