

CheKine™ 天门冬氨酸氨基转移酶（谷草转氨酶/AST/GOT）活性检测试剂盒（IFCC 速率法）

货号: KTB2303

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本：动植物组织、细胞或细菌、血清（浆）或其他液体
	保质期：4℃，保存 12 个月

01 背景与原理

天门冬氨酸氨基转移酶（AST，旧称谷草转氨酶 GOT，EC 2.6.1.1）广泛分布于动植物组织，主要存在于肝脏、心肌、骨骼肌、肾脏，当组织细胞发生损伤破裂时，酶大量释放至体液中，因此 AST 活力是评价组织细胞损伤程度的重要生化指标。

本试剂盒检测原理是样本中 AST 催化 L-天冬氨酸与 α -酮戊二酸发生氨基转移，生成草酰乙酸与 L-谷氨酸。苹果酸脱氢酶（MDH）将生成的草酰乙酸还原为 L-苹果酸，同时消耗 NADH 生成 NAD⁺。NADH 在 340 nm 具有强紫外特征吸收，NAD⁺在此波长几乎无吸收，测定 340 nm 处吸光度下降速率即可计算 AST 活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	12 mL	24 mL	4℃
Reagent II	15 μ L	30 μ L	4℃
Reagent III	5 mL	12 mL	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	PBS	提取/稀释样本用
其他	匀浆器（组织）、超声破碎仪（细胞或细菌）、恒温箱、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 该试剂盒提取的样本也适用于 KTB2302 的测定。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent II	即用型；使用前低速离心，平衡到室温	4℃保存
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把完整细胞或者分装的组织块保存在 -80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从 -80℃ 拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。

- 动植物组织：称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL PBS，冰浴匀浆，12000 g，4℃ 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- 细胞或细菌：收集 5×10⁶ 个细胞或细菌，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清液。加入 1 mL PBS，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），12000 g，4℃ 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

- 血清（浆）等液体样本：直接检测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. Working Solution 的配制：按照每孔 200 μL (Reagent I 200 μL: Reagent II 0.2 μL，配制体积比 1000:1) 配制 Working Solution 并混合均匀，需现用现配。
3. 检测体系配制：在 96 孔板中按照如下方式操作：

试剂	测定孔 (μL)
样本	20
Working Solution	200
混匀，37℃孵育 5 min	
Reagent III	80

4. 吸光度检测：混匀，记录 340 nm 处 37℃孵育 5 min 的吸光值 A₁ 和 10 min 的吸光值 A₂。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算ΔA=A₁-A₂。

2. AST 活力的计算

- 按蛋白浓度计算：

酶活定义：在 37℃条件下，每 g 组织蛋白在反应体系中每分钟消耗 1 μmol NADH 定义为一个酶活性单位。

AST (U/g prot)=[ΔA÷(ε×d)×10⁶×V_{反总}]÷(V_样×Cpr)÷T=535.9×ΔA÷Cpr

- 按样本鲜重计算：

酶活定义：在 37℃条件下，每 g 组织在反应体系中每分钟消耗 1 μmol NADH 定义为一个酶活性单位。

AST (U/g)=[ΔA÷(ε×d)×10⁶×V_{反总}]÷(W×V_样÷V_{样总})÷T=0.5359×ΔA÷W

- 按细胞或细菌数量计算：

酶活定义：在 37℃条件下，每 10⁶ 个细胞或细菌在反应体系中每分钟消耗 1 μmol NADH 定义为一个酶活性单位。

AST (U/10⁶)=[ΔA÷(ε×d)×10⁶×V_{反总}]÷(N×V_样÷V_{样总})÷T=0.5359×ΔA÷N

- 按液体体积计算：

酶活定义：在 37℃条件下，每 L 液体样本在反应体系中每分钟消耗 1 μmol NADH 定义为一个酶活性单位。

AST (U/L)=[ΔA÷(ε×d)×10⁶×V_{反总}]÷V_样÷T=535.9×ΔA

ε: NADH 摩尔消光系数, 6.22×10³ L/mol/cm; d: 96 孔 UV 板光径, 0.9 cm; 10⁶: 单位换算系数, 1 mol=10⁶ μmol; V_{反总}: 反应体系总体积, 3×10⁻⁴ L; V_样: 加入反应体系中样本体积, 2×10⁻⁵ L; Cpr: 样本蛋白质浓度, g/L; T: 反应时间, 5 min; V_{样总}: 加入 PBS 体积, 10⁻³ L; W: 样本质量, g; N: 细胞数量, 以 10⁶ 为单位 (例如细胞数量为 5×10⁶, N=5)。

07 结果展示

示例 -1: 取 0.1 g 小鼠心脏, 按上述步骤操作, 用 PBS 稀释 90 倍后, 用 96 孔 UV 板测得 $\Delta A = A_1 - A_2 = 2.190 - 2.007 = 0.183$, 按样本鲜重计算含量得: 稀释 90 倍的小鼠心脏 AST (U/g) = $0.5359 \times \Delta A \div W = 0.981$ U/g。

08 FAQ

- 检测得到的样本 ΔA 过高或者过低怎么办?

如果样本 $A_1 < 1.5$ 或 $\Delta A > 0.7$, 样本需用 PBS 适当进行稀释后, 再进行实验, 或减少提取用样本量。如果样本的 $A_1 > 2.0$ 且 $\Delta A < 0.03$, 可适当提高样本量或延长检测时间。测定肝脏样本时建议稀释倍数为 20-80 倍, 测定肾脏样本时建议稀释倍数为 20-40 倍, 测定心脏样本时建议稀释倍数为 40-100 倍。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB2302	CheKine™ 丙氨酸氨基转移酶（谷丙转氨酶/ALT/GPT）活性检测试剂盒（IFCC 速率法）

CheKine™ 天门冬氨酸氨基转移酶（谷草转氨酶/AST/GOT） 活性检测流程示意图（IFCC 速率法）

（Abbkin 货号：KTB2303）

