

CheKine™ 天冬氨酸氨基转移酶（谷草转氨酶/AST/GOT）活性检测试剂盒（赖氏法）

货号: KTB1420

规格: 96 T/48 S

192 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动物组织、细胞、血清(浆)
	保质期: 4℃, 避光保存 24 个月

01 背景与原理

谷草转氨酶（Aspartate Aminotransferase, AST, 旧称 GOT）是胞内氨基转移酶，广泛分布于动物/人体心肌、肝脏、骨骼肌、肾脏等组织的线粒体与胞质中；正常体液中含量极低，当细胞受损破裂时大量释放入血。AST 催化 L-天冬氨酸与 α -酮戊二酸之间的可逆转氨基作用，参与体内氨基酸代谢、糖异生通路。临床检测中，AST 活性是评价肝细胞、心肌细胞损伤程度的关键指标。

本试剂盒检测原理是谷丙转氨酶（AST/GOT）在 37℃ 及 pH 7.4 条件下，催化 α -酮戊二酸和 L-天冬氨酸发生转氨基反应，生成谷氨酸和丙酮酸；丙酮酸可与 2,4-二硝基苯肼反应生成丙酮酸苯腙，在碱性条件下显棕红色，于 505 nm 测定吸光度，即可计算 AST/GOT 酶活力。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	96 T	192 T	
Reagent I	3.2 mL	6.4 mL	4℃
Reagent II	3.2 mL	6.4 mL	4℃, 避光保存
Reagent III	32 mL	64 mL	4℃
Reagent IV	1 mL	1 mL	4℃
Standard	1 mL	1 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 505 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	1×PBS (pH 7.4)	样本制备/检测体系配制用
其他	匀浆器（组织样本）、超声破碎仪（细胞）、恒温箱、制冰机、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）。
- 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）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 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

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℃
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃，避光保存
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃
Reagent IV	即用型；使用前平衡到室温	4℃
Standard	即用型；使用前平衡到室温；2 μmol/mL 丙酮酸钠标准溶液	4℃

05-2 样本制备

- 注意：1.推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把完整细胞和分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。肝脏样本建议稀释 20-60 倍。
- 2.该试剂盒提取的样本也可以用于 KTB1410、KTB2302、KTB2303 的测定。
- 动物组织：称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 1×PBS (pH 7.4)，使用预冷好的研磨仪冰浴匀浆（推荐参数：加入 3 颗 3 mm 钢珠，55 HZ，匀浆 30 s，间隔 10 s，重复 4 次），然后 10000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置于冰上待测。
 - 细胞：收集 5×10⁶ 个细胞，用冷 PBS 清洗细胞，800 g 离心 2 min，弃上清液。加入 1 mL 1×PBS (pH 7.4)，

冰浴超声波破碎细胞 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），10000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

- 血清（浆）：直接检测。

05-3 实验步骤

注意：在配制检测体系时要确保试剂集中加在板底，且充分混匀，若加在管壁可能会导致检测结果产生偏差。

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 505 nm。

2. 标准曲线检测体系配制：使用 2 μmol/mL 丙酮酸钠标准溶液，在 96 孔板中按照下表所示依次加入。每次实验都要做一次标准品检测，制作标准曲线。空白孔、标准孔 1、标准孔 2、标准孔 3、标准孔 4 对应的卡门氏单位分别为 0、24、61、114、190。

试剂 (μL)	空白孔	标准孔 1	标准孔 2	标准孔 3	标准孔 4
Reagent IV	5	5	5	5	5
Standard	0	2	4	6	8
Reagent I	20	18	16	14	12
Reagent II	20	20	20	20	20
充分混匀，37℃孵育 20 min					
Reagent III	200	200	200	200	200

3. 样本检测体系配制：每个测定孔均需设置一个对照孔，在 96 孔板中按照如下方式操作：

试剂	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)
样本	5	0
Reagent I	20	20
充分混匀，37℃孵育 30 min		
Reagent II	20	20
样本	0	5
充分混匀，37℃孵育 20 min		
Reagent III	200	200

4. 吸光度检测：充分混匀，室温（25℃）静置 10 min，测定 505 nm 处吸光值，标准孔记录为 A_{标准}，空白孔记录为 A_{空白}，测定孔记录为 A_{测定}，对照孔记录为 A_{对照}。

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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 标准曲线绘制

以空白孔和各标准孔对应的卡门氏单位为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线，得到多项式方程 $y = ax^2 + bx + c$ 。将样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到对应的卡门氏单位 y 值。

3. 样本 AST 活性计算

卡门氏单位定义：在 25℃ 时，1 mL 样本，反应液总体积 3 mL，波长 340 nm，1 cm 光径，反应 1 min 生成的丙酮酸，使 NADH 氧化成 NAD⁺而引起吸光度下降 0.001 为一个卡门氏单位。（1 卡门氏单位=0.482 U/L，25℃）
国际单位定义：1 L 样本在 25℃ 反应 1 min 催化消耗 1 μmol NADH 为一个国际单位。

- 按样本蛋白浓度计算

AST (U/g prot)= $0.482y \div \text{Cpr}$

- 按样本质量计算

AST (U/g)= $0.482y \times V_{\text{样总}} \div W = 4.82 \times 10^{-4} y \div W$

- 按细胞数量计算

AST (U/ 10^6)= $0.482y \times V_{\text{样总}} \div N = 4.82 \times 10^{-4} y \div N$

- 按血清（浆）体积计算

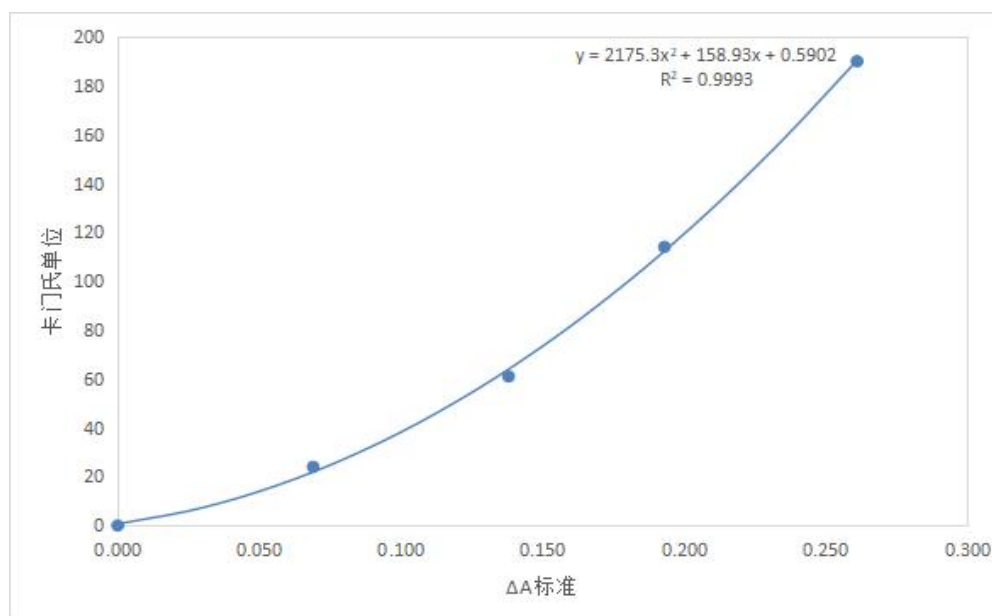
AST (U/L)= $0.482y$

0.482：25℃，1 卡门氏单位=0.482 U/L（国际单位）； $V_{\text{样总}}$ ：样本处理加入 1×PBS (pH 7.4) 的体积，0.001 L；

Cpr：样本蛋白质浓度，g/L；W：样本质量，g；N：细胞数量，以 10^6 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ，N=5）。

07 结果展示

典型标准曲线： $y = 2175.3x^2 + 158.93x + 0.5902$ ， $R^2 = 0.9993$



示例-1：取 0.1 g 小鼠肝脏样本，按照样本制备步骤提取，将样本上清用 1×PBS (pH 7.4) 稀释 40 倍，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.361 - 0.234 = 0.127$ ，代入标准曲线，计算 $y = 55.86$ 。按样本质量计算得：稀释 40 倍小鼠肝脏 AST (U/g)= $4.82 \times 10^{-4} y \div W = 0.269$ U/g。

08 FAQ

● 样本检测得到的 y 值过高或者过低怎么办？

如果样本检测得到的 y 值大于 150，可用 1×PBS (pH 7.4)将样本稀释后再重新检测。如果样本检测得到的 y 值小于 3，可适当增加样本量，再重新进行检测。

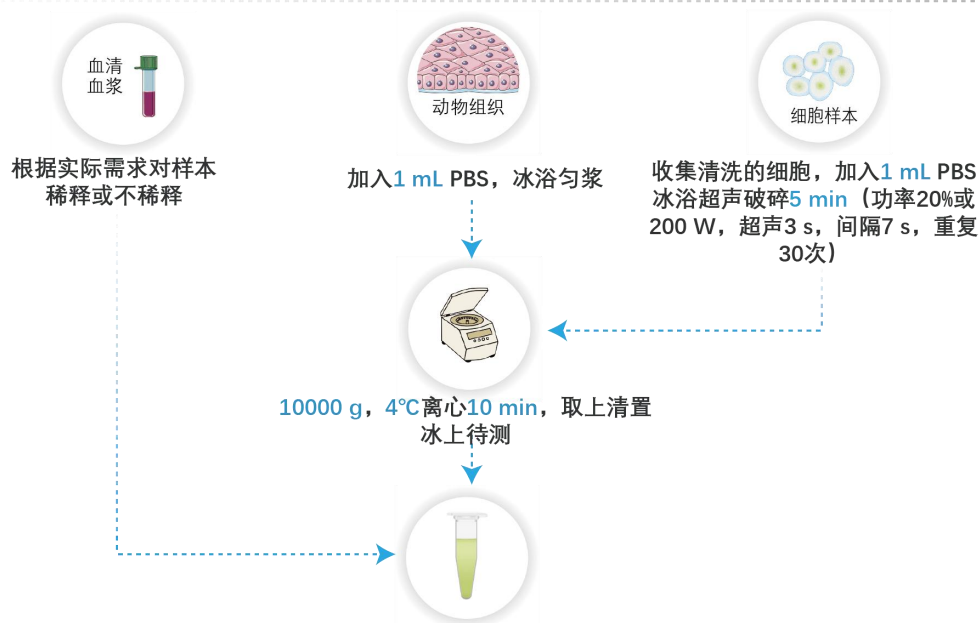
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1410	CheKine™ 丙氨酸氨基转移酶（谷丙转氨酶/ALT/GPT）活性检测试剂盒（赖氏法）
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）
KTB2303	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）

CheKine™ 天冬氨酸氨基转移酶（谷草转氨酶/AST/GOT） 活性检测流程示意图（赖氏法）

（Abbkin 货号：KTB1420）

样本处理



体系配置



数据检测

充分混匀，室温（25℃）静置10 min，
测定505 nm处吸光值
结果计算