

谷草转氨酶（GOT）活性测定试剂盒说明书

微量法 100管/48样

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

测定意义

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。

测定原理

GOT催化 α -同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

可见分光光计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配制

提取液：液体60mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体2.5 mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：液体2.5 mL×1瓶，4℃保存；

试剂三：液体25 mL×1瓶，4℃保存；

样品测定的准备

1、细菌、细胞或组织样品的制备：

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），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。

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

2、血清（浆）样品：直接检测。

测定操作表

1. 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。
2. 在EP管或在96孔板中加入下列试剂

试剂名称（ μ L）	测定管	对照管
待测样本	10	
煮沸10min的待测样本		10
试剂一	25	

蒸馏水		25
-----	--	----

混匀后，37°C（哺乳动物）或25°C（其它物种）准确反应20min

试剂二	25	25
-----	----	----

混匀后，37°C（哺乳动物）或25°C（其它物种）准确反应20min

试剂三	240	240
-----	-----	-----

混匀，室温（25°C）放置10min，505nm波长处测各管吸光度A。ΔA=A测定管-A对照管。每个测定管需设一个对照管。

计算

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、标准条件下测定的回归曲线， $y = 0.4768x - 0.0013$ （x为标准品浓度， $\mu\text{mol/mL}$ ；y为ΔA）。

2、血清（浆）GOT活力的计算

单位的定义：每mL血清（浆）每分钟催化产生1nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/mL)} = (\Delta A + 0.0013) \div 0.4768 \div T \times 103 = 104.9 \times (\Delta A + 0.0013)$$

3、细胞、细菌和组织中GOT活力的计算

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白每分钟催化产生1 nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.4768 \times V1] \div (V1 \times Cpr) \div T \times 103 = 104.9 \times (\Delta A + 0.0013) \div Cpr$$

需要另外测定，建议使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒。

(2) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织每分钟催化产生1nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/g鲜重)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.4768 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \div T \times 103 = 104.9 \times (\Delta A + 0.0013) \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每1万个细菌或细胞每分钟催化产生1nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/104 cell)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.4768 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) \div T \times 103 = 0.21 \times (\Delta A + 0.0013)$$

V1：加入反应体系中样本体积，0.01mL；V2：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，20min；Cpr：蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500万；103：1 $\mu\text{mol/mL}$ =103 nmol/mL。

b.使用96孔板测定的计算公式如下：

1、标准条件下测定的回归曲线， $y = 0.2384x - 0.0013$ （x为标准品浓度， $\mu\text{mol/mL}$ ；y为ΔA）。

2、血清（浆）GOT活力的计算

单位的定义：每mL血清（浆）每分钟催化产生1nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/mL)} = (\Delta A + 0.0013) \div 0.2384 \div T \times 103 = 209.7 \times (\Delta A + 0.0013)$$

3、细胞、细菌和组织中GOT活力的计算

(1) 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每mg组织蛋白每分钟催化产生1 nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.2384 \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \times 103 = 209.7 \times (\Delta A + 0.0013) \div \text{Cpr}$$

需要另外测定, 建议使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒。

(2) 按样本鲜重计算:

单位的定义: 每g组织每分钟催化产生1nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/g鲜重)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.2384 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \div T \times 103 = 209.7 \times (\Delta A + 0.0013) \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算:

单位的定义: 每1万个细菌或细胞每分钟催化产生1nmol丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/104 cell)} = [(\Delta A + 0.0013) \div 0.2384 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) \div T \times 103 = 0.419 \times (\Delta A + 0.0013)$$

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.01mL; V2: 加入提取液体积, 1 mL; T: 反应时间, 20 min; Cpr: 蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500万; 103: 1umol/mL=103 nmol/mL。

1. 标准曲线线性范围为: 0.01 umol/mL -2 umol/mL。
2. ΔA线性范围为: 0.01 -1。