

上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0379

Size: 100T/48S

## 谷草转氨酶 (GOT) 检测试剂盒说明书

### 微量法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、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。

#### 二、测定原理:

GOT 催化  $\alpha$ -酮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。

#### 三、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、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置:

| 种类  | 试剂规格                   | 储存条件   | 使用方法及注意事项               |
|-----|------------------------|--------|-------------------------|
| 提取液 | 液体 60mL $\times$ 1 瓶   | 4°C 保存 |                         |
| 试剂一 | 液体 3.5 mL $\times$ 1 瓶 | 4°C 保存 |                         |
| 试剂二 | 液体 3.5 mL $\times$ 1 瓶 | 4°C 保存 |                         |
| 试剂三 | 液体 30 mL $\times$ 1 瓶  | 4°C 保存 |                         |
| 标准品 | 液体 1mL $\times$ 1 支    | 4°C 保存 | 20 $\mu$ mol/mL 丙酮酸钠标准品 |

## 五、操作步骤：

### ● 样品测定的准备

#### 1. 细胞或细菌样品的制备：

先收集细胞或细菌样品到离心管内，弃上清，按照每 500 万细胞或细菌加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率 20%，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）3500g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 2. 组织：

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液进冰浴行匀浆。3500g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 3. 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、首先用蒸馏水将标准品稀释至  $2\mu\text{mol/mL}$ ，按下表 混合标准品和试剂一得到相应浓度的标准管：

| 标准品 ( $\mu\text{L}$ ) | 试剂一 ( $\mu\text{L}$ ) | 标准管浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ ) |
|-----------------------|-----------------------|------------------------------|
| 22.5                  | 7.5                   | 1.5                          |
| 15                    | 15                    | 1                            |
| 12                    | 18                    | 0.8                          |
| 6                     | 24                    | 0.4                          |
| 3                     | 27                    | 0.2                          |
| 1.5                   | 28.5                  | 0.1                          |
| 0.75                  | 29.25                 | 0.05                         |
| 0                     | 30                    | 0                            |

3、在 EP 管或在 96 孔板中加入下列试剂

| 试剂名称 (μL)                                 | 测定管 | 对照管 | 标准管 |
|-------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 待测样本                                      | 5   |     |     |
| 试剂一                                       | 25  | 25  |     |
| 标准液                                       |     |     | 30  |
| 混匀后, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 预热 30min   |     |     |     |
| 试剂二                                       | 25  | 25  | 25  |
| 待测样本                                      |     | 5   |     |
| 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 | 240 |

混匀, 室温放置 10min, 在 505nm 波长处测各管吸光度。

注: 0 μmol/mL 标准管为空白管。

## 六、计算

### 1、标准曲线的绘制:

以各标准溶液浓度为 x 轴, 以  $\Delta A$  (A 标准管 - A 空白管) 为 y 轴做标准曲线, 得到方程  $y=kx+b$ 。将 (A 测定管 - A 对照管) 带入方程求 x 值。

### 2、GOT 活性计算:

#### (1) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每小时每 g 鲜重样品催化产生 1 μmol 丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$$\text{GOT (U/g 鲜重)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 12x \div W。$$

#### (2) 按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每小时每 mg 组织蛋白催化产生 1 μmol 丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$$\text{GOT (U/mg prot)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 12x \div C_{\text{pr}}。$$

(3) 按血清（浆）体积计算：

单位定义：每小时每 mL 血清样品催化产生  $1\ \mu\text{mol}$  丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$$\text{GOT (U/mL)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div V_{\text{样本}} \div T = 12x。$$

(4) 按细菌或细胞数量计算：

单位定义：每小时每  $10^4$  细菌或细胞催化产生  $1\ \mu\text{mol}$  丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$$\text{GOT (U/10}^4\text{cell)} = x \times (V_{\text{样本}} + V_{\text{试剂一}}) \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 0.024x。$$

$V_{\text{样本}}$ ：吸取样本体积，0.005mL； $V_{\text{试剂一}}$ ：吸取试剂一体积，0.025mL； $V_{\text{样总}}$ ：吸取提取液体积，1mL； $W$ ：样本鲜重，g； $C_{\text{pr}}$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL； $T$ ：反应时间，0.5h；500：细胞数量，500 万个。