

谷草转氨酶 (AST) 测定试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号: JL-T0875

有效期: 6个月

规格: 48T(21S)/96T(45S)

保存温度: 2-8°C

实验原理：

谷草转氨酶（AST）催化天冬氨酸与 α -酮戊二酸之间的氨基转换反应，生成草酰乙酸和谷氨酸，反应时间过后，加入苯胍，与丙酮酸生成苯胍，苯胍在碱性条件下呈红棕色。在 505nm 比读吸光度并计算酶活力。本试剂盒检测组织或细胞时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：JL-T0336）。

检测范围：0.75-72.3IU/L 灵敏度 0.75IU/L

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成:

试剂名称	规格 (48T/21S)	规格 (96T/45S)	保存条件
提取液	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃
试剂一	1mL×1 瓶	2mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	1mL×1 瓶	2mL×1 瓶	2-8℃
试剂三	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、恒温箱。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.75-72.3IU/L，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为提取液。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本**：按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例（建议约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）进行冰浴匀浆，离心机 4℃，10000 g，10min，取上清，置冰上待测。部分上清样本用于蛋白浓度测定。
4. **血清（浆）等液体样本**：直接测定。若浑浊，则离心后取上清测定。
5. **细胞/细菌样本**：按照细菌或细胞数量(10^4 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 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；10000 g，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。部分上清样本用于蛋白浓度测定。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品溶液的配制:**取一瓶标准品加 1mL 蒸馏水混匀为 20mmol/L 标准品，稀释 10 倍后使用，即取 20mmol/L 标准品 0.1mL 加 0.9mL 蒸馏水混匀为 2mmol/L 标准品。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 505nm。
2. 试剂一 37°C 预温 10min。
3. 标准曲线 (在 96 孔板中依次加入)

编号	0	1	2	3	4
提取液 (μL)	5	5	5	5	5
2mmol/L 标准品 (μL)	0	2	4	6	8
试剂一 (μL)	20	18	16	14	12
试剂二 (μL)	20	20	20	20	20
轻轻震荡孔板混匀, 37°C 反应 20min。					
试剂三 (μL)	200	200	200	200	200
酶标仪震板 10s 混匀, 室温放置 15min, 波长 505nm, 酶标仪测定各孔吸光值, 各孔 OD 值减去零孔 OD 值, 所得差值=绝对 OD 值作为横坐标, 以 0、24、61、114、190 卡门氏单位为纵坐标, 绘制二次函数曲线。					

4. 样本测定（在 96 孔板中依次加入）：

试剂名称(μL)	测定孔	对照孔
试剂一 (37°C预温 10min)	20	20
样本	5	
测定孔加入一个样本，都需将吸嘴伸入板孔液体中吸打混匀，37°C孵育 30min。		
试剂二	20	20
样本		5
对照孔加入一个样本，都需将吸嘴伸入板孔液体中吸打混匀，37°C孵育 20min		
试剂三	200	200
混匀，室温放置 15min，在 505nm 波长处测各孔 OD 值。		

注：每个测定孔设置一个对照孔。

实验结果结算：

1. **标准品拟合曲线：** $y=ax^2+bx+c$ 。

2. **卡门氏单位定义：**

25°C, 1mL 液体, 反应液总量 3mL, 波长 340nm, 1cm 光径, 1min 内所生成的丙酮酸, 使 NADH 氧化成 NAD⁺而引起 OD 值下降 0.001 为一个单位。(1 卡门氏单位=0.482IU/L, 25°C)

3. **国际单位定义：**

25°C条件下, 每分钟催化 1 μ molNADH 减少量所需的酶量为一个单位。

AST 含量 (IU/L) $= (a \times \Delta A^2 + b \times \Delta A + c) \times 0.482 \text{IU/L} * \times N$

4. **细胞、组织中 AST 浓度计算公式：**

AST 含量 (IU/gprot) $= (a \times \Delta A^2 + b \times \Delta A + c) \times 0.482 \text{IU/L} * \times N \div \text{Cpr}$

注：

y: 卡门氏单位 (0、24、61、114、190)

x: 标准品 OD 值-空白 OD 值 (卡门式单位为 0 时的 OD 值)

a,b,c: 拟合曲线相应的常数

ΔA : 样本的绝对 OD 值 (样本测定 OD 值-样本对照 OD 值)

N: 样本稀释倍数

*: 25°C条件下, 一卡门氏单位=0.482IU/L

Cpr: 组织样本蛋白浓度, gprot/L

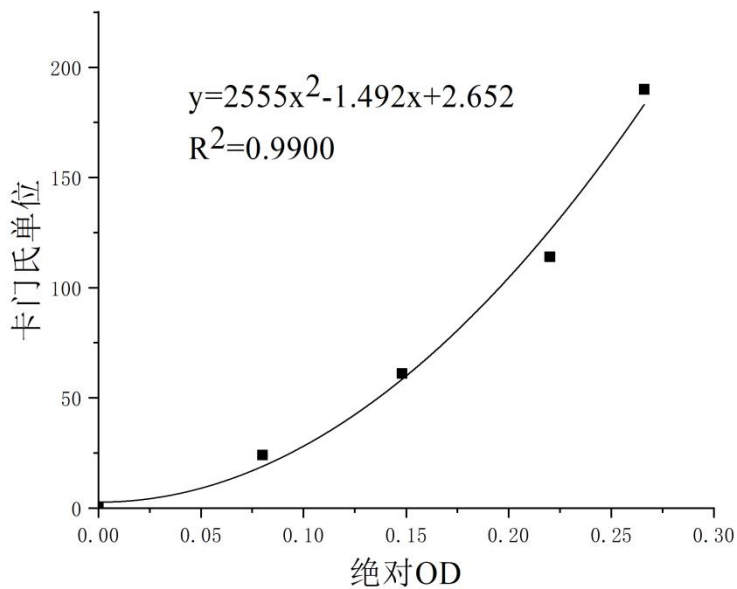
参考样本数据：

以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
大鼠肝脏 (10%匀浆)	不稀释	28.17IU/L
大鼠肾脏 (10%匀浆)	不稀释	6.44IU/L
人血清	不稀释	1.46IU/L
人血浆	不稀释	5.04IU/L

参考曲线：

$y=2555x^2-1.492x+2.652$, $R^2=0.9900$, x 是标准品的绝对 OD 值, y 是卡门氏单位。



注意：本图仅供参考，应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

Note:

咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjls@163.com

网 址：www.jonln.com