（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K236-S

产品规格：100 assays(45 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计(505 nm)

Elabscience®谷草转氨酶（AST/GOT）比色法测试盒

Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

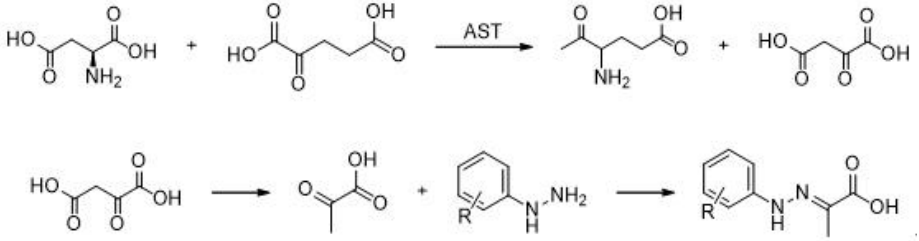
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、动物组织、细胞等样本的 AST 活力。

检测原理

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，生成谷氨酸和草酰乙酸，草酰乙酸在反应过程中可自行脱羧成丙酮酸。丙酮酸与苯肼反应，生成苯腙，苯腙在碱性条件下呈红棕色。



本试剂盒检测组织或细胞时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	1.8 mL×1 支	2-8°C 保存 12 个月
试剂二 (Reagent 2)	2 mmol/L 丙酮酸钠溶液 (2 mmol/L Sodium Pyruvate)	1.8 mL×1 支	2-8°C 保存 12 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物基质溶液 (Substrate Solution)	30 mL×2 瓶	2-8°C 保存 12 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Reagent)	30 mL×2 瓶	2-8°C 避光 保存 12 个月
试剂五 (Reagent 5)	碱溶液 (Alkali Reagent)	30 mL×2 瓶	2-8°C 保存 12 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，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。

所需自备物品

仪器：紫外-可见光分光光度计(505 nm)，恒温箱(37°C)

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）、PBS（0.01 M，pH 7.4）。

试剂准备

① 检测前，试剂平衡至室温。

② 试剂五工作液：

将试剂五：双蒸水按照1: 9的体积比稀释，现用现配。

③ 取部分试剂三，在37℃恒温箱中预温10 min。

样本准备

① 样本处理

血清(浆)等液体样本：直接测定。

组织样本：组织样本使用生理盐水(0.9% NaCl)匀浆处理。离心后取上清进行测定，部分上清样本用于蛋白浓度测定。

细胞样本：细胞样本使用生理盐水(0.9% NaCl)进行机械匀浆或超声破碎。匀浆离心后取上清进行测定，部分上清样本用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.38-72.30 IU/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	大鼠血清	不稀释
人血浆	不稀释	小鼠血浆	不稀释
10%大鼠肝脏组织	16-32	10%大鼠肾脏组织	不稀释
肝细胞上清	不稀释	10%大鼠心组织	不稀释

注：样本稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

实验关键点

① 加样或者试剂时，管壁上不能挂液。

② 加入试剂五工作液，加入速度要一致。

③ 样本须新鲜(血清样本 2-8°C 保存 7 天，-25°C 保存 20 天)。

操作步骤

标曲部分

① 标准管：将 10 mL EP 管编号 A、B、C、D、E，每个编号两个，分别加入 0.1 mL 试剂一。

② 向步骤①中从 A 管到 E 管分别加入 0、0.05、0.10、0.15、0.20 mL 的试剂二。

③ 向步骤②中从 A 管到 E 管分别加入 0.50、0.45、0.40、0.35、0.30 mL 的试剂三。

④ 向步骤③中各管，加入 0.5 mL 试剂四，混匀后，37°C 孵育 20 min。

⑤ 向步骤④中各管加入 5 mL 试剂五工作液。

⑥ 室温静置 10 min，紫外分光光度计 505 nm 处，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度值。

注：以绝对 OD 值（各管 OD 值-A 管 OD 值）为横坐标，相对应的卡门氏单位（0、24、61、114、190）为纵坐标，绘制标准曲线。

样本部分

① 测定管：向 10 mL EP 管中加入 0.1 mL 待测样本。

② 对照管：向 10 mL EP 管中加入 0.5 mL 已经预温 10 min 的试剂三；
测定管：向步骤①中加入 0.5 mL 已经预温 10 min 的试剂三；

③ 混匀后，37°C 孵育 30 min。

④ 向步骤③中，加入 0.5 mL 试剂四。

⑤ 向步骤④对照管中加入 0.1 mL 待测样本。

⑥ 混匀后，37°C 孵育 20 min。

⑦ 向步骤⑥中加入 5 mL 试剂五工作液。

⑧ 室温静置 10 min，紫外分光光度计 505 nm 处，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度值。

操作表

标准曲线

	A	B	C	D	E
试剂一(mL)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
试剂二(mL)	0	0.05	0.10	0.15	0.20
试剂三(mL)	0.50	0.45	0.40	0.35	0.30
试剂四(mL)	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
充分混匀后，37°C 孵育 20 min。					
试剂五工作液(mL)	5	5	5	5	5
室温静置 10 min，紫外分光光度计 505 nm 处，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测各管 OD 值。					

样本测定

	对照管	测定管
待测样本(mL)	--	0.1
37°C 预温 10 min 的试剂三(mL)	0.5	0.5
混匀后，37°C 孵育 30 min。		
试剂四(mL)	0.5	0.5
待测样本(mL)	0.1	--
混匀后，37°C 孵育 20 min。		
试剂五工作液(mL)	5	5
室温静置 10 min，紫外分光光度计 505 nm 处，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测各管 OD 值。		

本试剂盒检测组织或细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = a x^2 + b x + c$

卡门氏单位定义：

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

国际单位定义：

25℃条件下，每分钟催化 1 μmol NADH 减少量所需的酶量为一个单位。

血清(浆)、细胞上清中 AST 浓度计算公式：

AST 含量（IU/L）$=[a \times (\Delta A_{505})^2 + b \times \Delta A_{505} + c] \times 0.482$ IU/L* × f

细胞、组织中 AST 浓度计算公式：

AST 含量（IU/gprot）$=[a \times (\Delta A_{505})^2 + b \times \Delta A_{505} + c] \times 0.482$ IU/L* × f ÷ C_{pr}

注解:

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_{505}：样本测定 OD 值-样本对照 OD 值

*：25℃条件下，一卡门氏单位=0.482 IU/L

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

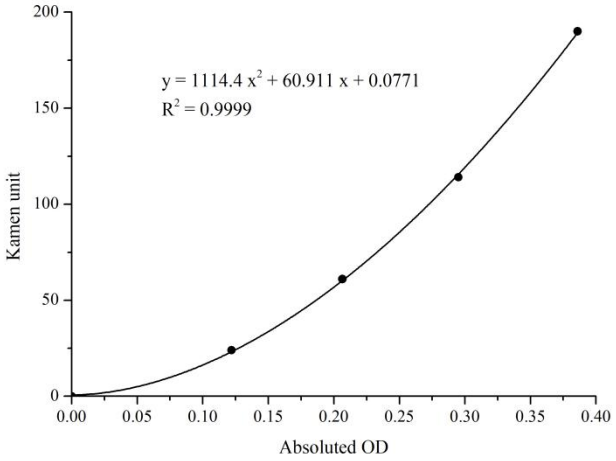
C_{pr}：组织样本蛋白浓度：gprot/L

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.38-72.30 IU/L	平均批间差	4.9 %
灵敏度	0.38 IU/L	平均批内差	4.2 %
平均回收率	104 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



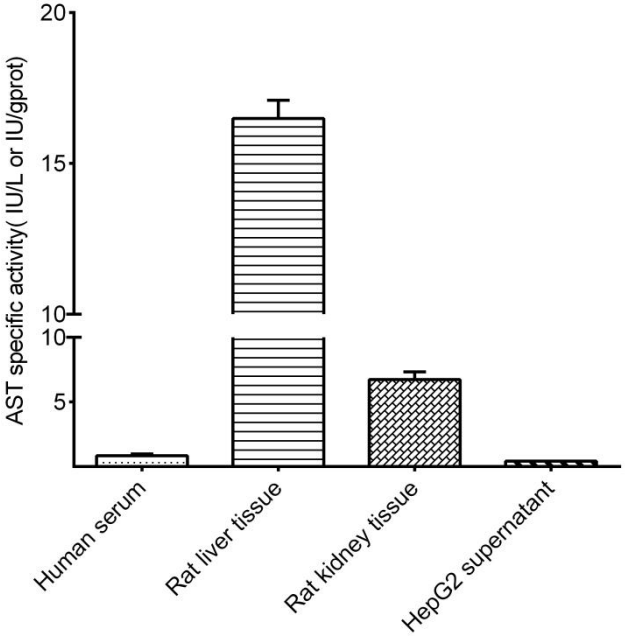
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考)：

取0.1 mL人血清，按操作表操作，结果如下：标准曲线：$y = 1114.4\ x^2 + 60.911\ x + 0.0771$，对照管平均OD值为0.251，测定管平均OD值为0.271，计算结果为：

$$\text{AST 含量 (IU/L)} = [1114.4 \times (0.271 - 0.251)^2 + 60.911 \times (0.271 - 0.251) + 0.0771] \times 0.482 = 0.84\ \text{IU/L}$$

按说明书操作，测定人血清(加样量0.1 mL)、大鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量13.11 gprot/L，稀释50倍，加样量0.1 mL)、大鼠肾脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量9.26 gprot/L，加样量0.1 mL)、HepG2细胞上清(加样量0.1 mL)中AST活力(如下图)：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	试剂五工作液加入速度不一样	加液速度保持一致
样本和标准品显色很低	孵育时间太短	保证充足的孵育时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>72.30 IU/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。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。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Fang X, Ding H, Chen Y, et al. Wireless Optogenetic Targeting Nociceptors Helps Host Cells Win the Competitive Colonization in Implant-Associated Infections[J]. Small Methods, 2024, 8(12): 2400216.

2. Ma X, Zhang W, Chen Y, et al. Paeoniflorin inhibited GSDMD to alleviate ANIT-induced cholestasis via pyroptosis signaling pathway[J]. Phytomedicine, 2024, 134: 156021.

3. Cao C, Liu W, Guo X, et al. Identification and validation of efferocytosis-related biomarkers for the diagnosis of metabolic dysfunction-associated steatohepatitis based on bioinformatics analysis and machine learning[J]. Frontiers in Immunology, 2024, 15: 1460431.

4. Popa A, Usatiuc L O, Scurtu I C, et al. Assessing the Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of Mangiferin in Murine Model for Myocarditis: Perspectives and Challenges[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(18): 9970.Y

5. Kaboutari M, Asle-Rousta M, Mahmazi S. Protective effect of menthol against thioacetamide-induced hepatic encephalopathy by suppressing oxidative stress and inflammation, augmenting expression of BDNF and α7-nACh receptor, and improving spatial memory[J]. European Journal of Pharmacology, 2024, 981: 176916.

6. Zhao Y, Wang R, Li A, et al. Protective effect of hydroxysafflor yellow a on thioacetamide-induced liver injury and osteopenia in zebrafish[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2024, 492: 117109.

7.