

谷草转氨酶（GOT）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1114

产品规格：100管/48样

产品简介：

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。

GOT催化 α -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。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×2支	2-8℃
试剂二	液体3.5mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体30mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：提供1个8mL空瓶；临用前取1支试剂一倒入空瓶中，用2mL蒸馏水溶解，再用溶液将试剂一残留的试剂润洗下来，现用现配；
2. 标准品：20 μ mol/mL丙酮酸钠。

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计/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/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤（仅供参考）：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 细胞或细菌样本的制备：先收集细胞或细菌样本到离心管内，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提取液进行冰浴匀浆。3500g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
3. 血清（浆）样本：直接检测。

二、测定步骤

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. 标准曲线的测定：首先将标准品用蒸馏水稀释至2 μ mol/mL，按下表混合标准品和试剂一得到相应浓度的标准管：



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

标准品 (μL)	试剂一 (μL)	标准管浓度 (μmol/mL)
22.5	7.5	1.5
15	15	1
12	18	0.8
6	24	0.4
3	27	0.15
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) 反应 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。

三、GOT 活性计算

标准曲线的绘制:

以各标准溶液浓度为 x 轴, 以 ΔA (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。

GOT 活性计算:

(1) 按样本质量计算:

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

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

(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 1μmol 丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$$\text{GOT (U/mg prot)} = x \times (V \text{ 样本} + V \text{ 试剂一}) \div (Cpr \times V \text{ 样本}) \div T = 12x \div Cpr$$

(3) 按血清(浆)体积计算:

单位定义: 每小时每 mL 血清样本催化产生 1μmol 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 1μmol 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 样本: 吸取样本体积, 0.005mL; V 试剂一: 吸取试剂一体积, 0.025mL; V 样总: 吸取提取液体积, 1mL;

W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; T: 反应时间, 0.5h; 500: 细胞数量, 500 万个。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com