



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: shyysw@sina.com

## 谷草转氨酶(GOT)活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41801

规格: 100T/48S

有效期: 6个月

产品组成及保存条件:

| 编号                        | 规格       | 储存条件                                                 |
|---------------------------|----------|------------------------------------------------------|
| 提取液ES08                   | 60mL×1瓶  | 2-8℃保存                                               |
| R41801-A                  | 粉剂×1瓶    | 2-8℃保存; 临用前加入少量提取液溶解, 并调PH 值为7.4,然后用提取液定容至2.5ml,现用现配 |
| R41801-B                  | 3 mL×1瓶  | 2-8℃保存                                               |
| R41801-C                  | 30 mL×1瓶 | 2-8℃保存                                               |
| R41801-标准品<br>(20μmol/ml) | 1 mL×1支  | 2-8℃保存                                               |

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 简介

意义: 谷草转氨酶 (Glutamic-oxalacetic Transaminase, 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。

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。

自备用品:



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。

## 样品制备:

### 1. 细菌、细胞样品的制备:

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 ( $10^4$  个): 提取液 ES08 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 ES08), 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。

### 2. 组织样品的制备:

组织: 按照组织质量 (g): 提取液 ES08 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 ES08), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

### 3. 血清 (浆) 样品: 直接检测。

## 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. 标准曲线的稀释: 将标准品用蒸馏水稀释至  $1\mu\text{mol/mL}$ 、 $0.8\mu\text{mol/mL}$ 、 $0.4\mu\text{mol/mL}$ 、 $0.2\mu\text{mol/mL}$ 、 $0.1\mu\text{mol/mL}$ 、 $0.05\mu\text{mol/mL}$ 、 $0\mu\text{mol/mL}$ 。
3. 在 EP 管或 96 孔板中按下表加入试剂:

| 试剂名称(ul)                          | 测定管 | 对照管 | 标准管 |
|-----------------------------------|-----|-----|-----|
| 待测样本                              | 5   |     |     |
| R41801-A                          | 25  | 25  |     |
| 标准液                               |     |     | 30  |
| 混匀后, 37℃(哺乳动物)或25℃(其它物种)反应30min   |     |     |     |
| R41801-B                          | 25  | 25  | 25  |
| 待测样本                              |     | 5   |     |
| 混匀后, 37℃(哺乳动物)或25℃(其它物种)准确水浴20min |     |     |     |
| R41801-C                          | 240 | 240 | 240 |



混匀, 室温放置10min, 在505nm波长处, 测各管吸光度。

每个测定管需设一个对照管。

## 计算公式:

### 1. 标准曲线的绘制:

以各标准溶液浓度为 x 轴, 以 A505 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) 按样本质量计算:

单位定义: 每小时每 g 样本催化产生  $1\mu\text{mol}$  丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$$\text{GOT (U/g 质量)} = x \times (V_{\text{样本}} + R41801 - A) \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 12x \div W$$

#### (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  $1\mu\text{mol}$  丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$$\text{GOT (U/mg prot)} = x \times (V_{\text{样本}} + R41801 - A) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 12x \div C_{\text{pr}}$$

#### (3) 按血清(浆)体积计算:

单位定义: 每小时每 mL 血清(浆)样本催化产生  $1\mu\text{mol}$  丙酮酸的量为一个 GOT 活力单位。

$$\text{GOT (U/mL)} = x \times (V_{\text{样本}} + R41801 - A) \div V_{\text{样本}} \div T = 12x$$

#### (4) 按细胞或细菌数量计算:

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

$$\text{GOT (U/10}^4\text{ cell)} = x \times (V_{\text{样本}} + R41801 - A) \div (500 \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.024x$$

V 样本: 0.005mL; R41801-A: 0.025mL; V 样总: 提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; C<sub>pr</sub>: 样本蛋白质浓度, mg/mL; T: 反应时间, 0.5h; 500: 细胞或细菌总数, 500 万。