

## 谷草转氨酶（GOT）活性测定试剂盒说明书

（分光法 48 样）

### 一、产品简介：

谷草转氨酶（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。

谷草转氨酶 GOT 催化天门冬氨酸和 $\alpha$ -同戊二酸发生转氨基反应，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，在碱性溶液中显棕红色；通过在 520nm 读取吸光值并计算出该酶活力大小。

### 二、试剂盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 5mL×1 支	4℃保存
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4℃保存
试剂三	液体 6mL×1 瓶	4℃保存
试剂四	液体 60mL×1 瓶	4℃保存
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存

### 三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、可调式移液器、研钵。

### 四、谷草转氨酶（GOT）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

#### 1、样本制备：

##### ① 组织样本：

取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例提取

##### ② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 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）；12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌或细胞数量（ $10^4$ 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例提取

③ 血清（浆）样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

#### 2、上机测定：

① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 520nm，蒸馏水调零。

② 可先做 2 个样本预测定，熟悉操作过程，并依据测出的吸光值 A 是否超出标准曲线的线性范围来做调整。

③ 在 1.5mLEP 管中依次加入：

试剂名称（ $\mu$ L）	测定管	对照管
样本	20	
试剂一	10	10
试剂二	60	60
混匀，于 37℃ 孵育 30min		

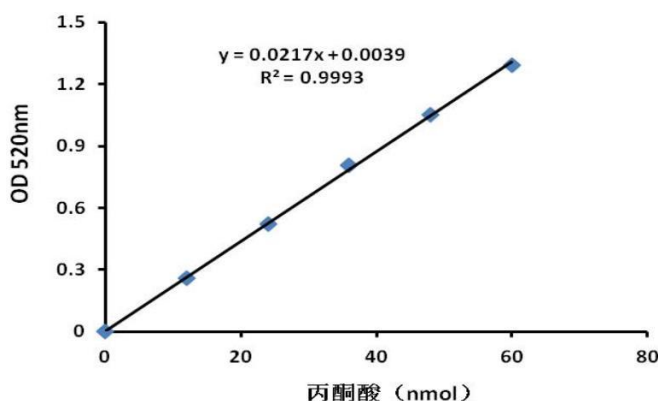
试剂三	60	60
样本		20
混匀，于 37℃ 孵育 10min		
试剂四	600	600
混匀，25℃ 孵育 10min，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 520nm 处测定吸光值 A， ΔA=A 测定-A 对照（每个样本做一个自身对照）。		

【注】1.若 A 测定超过 1.5，可降低样本量 V<sub>1</sub>（如 10μL），试剂一相应增加。则改变后的加样体积 V<sub>1</sub> 需代入计算公式重新计算。

2.若 ΔA 的值在零附近徘徊，则可增加样本量 V<sub>1</sub>（如 30μL，则试剂一相应减少），或增加样本取样质量（W），则改变后的加样体积 V<sub>1</sub> 和取样质量 W 需代入计算公式重新计算。

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0217x + 0.0039$ ，x 为标准品摩尔质量（nmol）；y 是 ΔA。



2、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1 nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A - 0.0039) \div 0.0217] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T = 76.8 \times (\Delta A - 0.0039) \div \text{Cpr}$$

3、按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/g 鲜重)} = [(\Delta A - 0.0039) \div 0.0217] \div (W \times V_1 \div V) \div T = 76.8 \times (\Delta A - 0.0039) \div W$$

4、按细菌或细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A - 0.0039) \div 0.0217] \div (500 \times V_1 \div V) \div T = 0.154 \times (\Delta A - 0.0039)$$

5、血清（浆）GPT 活力计算

酶活定义：每毫升血清（浆）每分钟催化产生 1nmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOT (nmol/min/mL)} = [(\Delta A - 0.0039) \div 0.0217] \div V_1 \div T = 76.8 \times (\Delta A - 0.0039)$$

V---提取液体积，1 mL；

V<sub>1</sub>---反应体系中样本体积，0.02mL；

T---反应时间，30 min；

W---样本质量，g； 500---细胞或细菌总数，500 万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（20μmol/mL）：加 1mL 蒸馏水溶解标准品，充分混匀。
- 2 把母液稀释成以下浓度：0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2μmol/mL。也可根据实际来调整浓度。
- 3 30μL 标准品+60μL 试剂二+60μL 试剂三，混匀，于 37℃ 孵育 10min；再加 600μL 试剂四，混匀，25℃ 孵育 10min，于 520nm 处测定吸光值 A，依据结果即可制作标准曲线。