

天门冬氨酸氨基转移酶测试盒说明书

(货号: C010-3-1 GOT/AST 紫外速率比色法 150mL)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书, 预试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担!

一、试剂组成及成份:

试剂	规格	成分	保存条件
试剂一	120mL×1瓶	Tris、LDH、NADH、MDH	2~8℃保存
试剂二	30mL×1瓶	Tris、L-天门冬氨酸、 α -酮戊二酸	2~8℃保存

不同批次的试剂盒中各组分不可以互换

二、预期用途:

用于体外测定血清(血浆)样本中天门冬氨酸氨基转移酶的活力。

三、检验原理:

样本的AST催化L-天门冬氨酸和 α -酮戊二酸氨基转换, 生成草酰乙酸和L-谷氨酸, 在NADH和苹果酸脱氢酶(MDH)存在下, 草酰乙酸被还原为L-苹果酸, NADH被氧化为NAD⁺, 从而使340nm处的光吸收值下降。通过监测340nm处的光吸收值下降的速率, 可以测定AST活力。

四、适用仪器:

适用于各种开放式全自动生化分析仪或分光光度计。

五、样本要求:

血清, 血清中AST活性在室温(20℃)可以保存48h, 在4℃冰箱下可以保存1周, 在-25℃以下可以保存1个月。严重脂血、黄疸或溶血等血清, 可能会引起测定管吸光度值增加。

六、检验方法:

1、试剂配制: 本试剂直接使用。

2、生化仪试验条件:

温度	37℃	样本用量	10 μ L
波长	340nm	试剂一用量	200 μ L
空白	试剂空白	试剂二用量	50 μ L
延迟时间	60秒	测定模式	速率法
监测时间	120秒	反应方向	下降

全自动生化分析仪自身自带的程序参数输入法, 上述的基本参数需结合此全自动生化分析仪自有的程序参数输入法, 进行上机参数输入后试剂才能配套仪器自动测定。

3、分光光度计操作方法:

	空白管	测定管
样本(μ L)		50
蒸馏水(μ L)	50	
试剂一(μ L)	1000	1000
涡旋混匀, 37℃水浴加热3min		
试剂二(μ L)	250	250
涡旋混匀, 37℃保温60秒, 后立即即分光光度计340nm处(蒸馏水调零, 1cm光径石英比色皿)读数(A1)并计时, 将液体倒回试管, 置于37℃水浴, (110秒时取出倒入比色皿, 置于分光光度计340nm处)120秒时再次读数(A2), 计算 $\Delta A/\text{min} = (A1 - A2) / 2\text{min}$ 。		

4、校准及质量控制程序:

这个实验不需要校准品(若有校准品预先进行了定标程序, 检测结果将更准确)。在生化仪上对样本进行检测时最好使用商品化的、具有溯源性的质控品进行检测, 其检测结果须在允许范围内, 才能对样本进行检测。

5、计算:

(生化计)AST(U/L) = $\Delta A/\text{min} \times K$ 因子

(分光光度计)AST(U/L) = ($\Delta A_{\text{测定}}/\text{min} - \Delta A_{\text{空白}}/\text{min}$) $\times K$ 因子

$$K \text{ 因子} = \frac{TV \times 1000}{6.22 \times SV \times P} = 4180$$

式中 TV=总反应体积(mL), SV=样本体积(mL), 6.22=NADH在340nm处的毫摩尔吸光系数, P=比色杯光径(cm), K因子在不同的生化仪上可能不同, 建议各实验室建立自己的K因子。

七、参考值(参考范围):

人血清正常值<42 U/L(37℃)引用的参考值范围代表本法的期望值, 仅供参考, 建议各实验室验证这一参考范围或建立自己的参考值范围。

八、检验结果的解释:

血红蛋白 $\leq 4\text{g/L}$ 、维生素C $\leq 4\text{g/L}$ 均不干扰结果。

九、检验方法的局限性:

当检验结果大于800U/L, 要将血清样本稀释后复查。

十、产品性能指标:

1. 试剂外观: R1: 无色至淡黄色澄清液体, R2: 无色至淡黄色澄清液体
2. 净含量: \geq 标本量。
3. 试剂空白吸光度: $\geq 1.0A$ (波长340nm、光径1.0cm), 试剂空白吸光度变化率: $\leq 0.02A/\text{min}$ 。
4. 分析灵敏度: 试剂测试100U/L的AST样本时, 吸光度变化率(ΔA) $\geq 0.012A/\text{min}$ 。
5. 线性范围: 在0~800U/L范围内, 计量-反应曲线的相关系数(r)不低于0.990, 线性偏差 $\leq \pm 15\%$, 绝对偏差 $\leq 8U/L$ (零点计算用)。
6. 测量精密性: 重复性 $\leq 5\%$ 、批间差 $\leq 5\%$ 。
7. 准确度: 有证参考物质测定试剂准确度 $\leq \pm 10$ (相对偏差法)或专用质控品测定结果在允许范围内。
8. 试剂的稳定性: 试剂盒自生产日起避光储存于2~8℃可稳定十二个月, 各项技术指标(批间差除外)均在范围之内。

十一、注意事项:

- 1、高脂或者黄疸标本在340nm处有较强吸收峰, 在这些标本中高水平的AST会导致底物耗尽而在340nm仍然维持高光度吸收值, 此时样品应该稀释后再测试。
- 2、本试剂仅用于科研, 含有防腐剂NaN₃不能口吸。