

鸟氨酸转氨酶（OAT）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYFG9-C24	鸟氨酸转氨酶（OAT）活性检测试剂盒	24T	常量法
AYFG9-C48		48T	

一、测定意义：

脯氨酸是植物体内适应逆境胁迫的一种重要的渗透调节物质，高等植物中脯氨酸代谢因其初始底物不同，分为谷氨酸（Glu）和鸟氨酸（Orn）两条合成途径。鸟氨酸转氨酶是以鸟氨酸为前体合成脯氨酸途径的关键酶，对植物适应逆境胁迫起关键作用。

二、测定原理：

鸟氨酸和 α -酮戊二酸在鸟氨酸转氨酶和 NADH 的作用下，可发生转氨基转移反应，生成 NAD 和吡咯醛-5-羧酸，NADH 在 340 nm 处具有特殊吸收峰，通过吸光度变化即可表征鸟氨酸转氨酶的活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2~8℃保存
试剂二配制： 使用前每瓶粉剂中加入 10 mL 试剂一充分溶解。			
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2~8℃保存
试剂三配制： 使用前每瓶粉剂中加入 10 mL 试剂一充分溶解。			
试剂四	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂四配制： 使用前每瓶粉剂中加入 10 mL 试剂一充分溶解。			

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10^4 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、培养液等液体：直接测定。

测定步骤

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 使用前将试剂二、试剂三、试剂四置于 37℃水浴 10min；
- 样本测定（在石英比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
试剂二（ μ L）	300	300
试剂三（ μ L）	300	300
试剂四（ μ L）	300	300
样品（ μ L）	100	-
蒸馏水（ μ L）	-	100

充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 $A1_{\text{测定}}$ 和 $A1_{\text{空白}}$ ；37℃准确反应 600 s（即 10min），测定 610 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 $A2_{\text{测定}}$ 和 $A2_{\text{空白}}$ ；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

五、鸟氨酸转氨酶（OAT）活性测定：

1、按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{计算公式：OAT (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T) \\ = 160.77 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按样本质量计算

单位定义：每 g 组织样品每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

计算公式：
$$\text{OAT (U/g)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9 \div (\varepsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T)$$
$$= 160.77 \times \Delta A \div W$$

3、按细胞数量计算

单位定义：每 10^4 细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

计算公式：
$$\text{OAT (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9 \div (\varepsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T) = 160.77 \times \Delta A \div W$$

4、按液体体积计算

单位定义：每 mL 液体每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

计算公式：
$$\text{OAT (U/g)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9 \div (\varepsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T) = 160.77 \times \Delta A$$

$V_{\text{样总}}$ ：待测样本总体积，1 mL； $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， 1×10^{-3} L；

$V_{\text{样}}$ ：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL； ε ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d ：1 mL 石英比色皿光径，1 cm； C_{pr} ：样本蛋白浓度，mg/mL； W ：样本质量，g； T ：反应时间：600 s = 10 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 10^9 nmol。

六、 注意事项：

- 1、若 ΔA 大于 0.5，建议将样品稀释后再进行测定，若 ΔA 小于 0.02，可适当延长反应时间后再进行测定，计算时相应修改；
- 2、空白组为检测各试剂组分质量的检测孔，正常情况变化不超过 0.05；准确在 10 s 和 610 s 处完成吸光值测定，以确保试验结果的准确性和重复性；
- 3、若样本较多，可将试剂二，试剂三，试剂四按照 1：1：1 比例配制成工作液；
- 4、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以

实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日