

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-M48	鸟氨酸转氨酶（OAT）活性检测试剂盒	48T	微量法
		96T	微量法

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，可发生酰基转移反应，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	试剂装置(48T)	试剂装置(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×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 5 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 5 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 5 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

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 2、使用前将试剂二、试剂三、试剂四置于 37℃ 水浴 10min；
- 3、样本测定（在 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
试剂二 (μ L)	60	60
试剂三 (μ L)	60	60
试剂四 (μ L)	60	60
样品 (μ L)	20	-
蒸馏水 (μ L)	-	20

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 $A_{1\text{ 测定}}$ 和 $A_{1\text{ 空白}}$ ；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 $A_{2\text{ 测定}}$ 和 $A_{2\text{ 空白}}$ ；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{1\text{ 测定}} - A_{2\text{ 测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A_{1\text{ 空白}} - A_{2\text{ 空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。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。

$$\begin{aligned} \text{计算公式: } OAT (\text{U/mg prot}) &= \Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (\varepsilon \times d \times V_{\#} \times C_{\text{pr}} \times T) \\ &= 267.95 \Delta A \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

- 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。

$$\begin{aligned}\text{计算公式: OAT (U/g)} &= \Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T) \\ &= 267.95 \times \Delta A \div W\end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned}\text{计算公式: OAT (U/10}^4 \text{ cell)} &= \Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细} \\ &\quad \text{菌或细胞数量} \times T) = 267.95 \times \Delta A \div W\end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned}\text{计算公式: OAT (U/g)} &= \Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T) \\ &= 267.95 \times \Delta A\end{aligned}$$

$V_{\text{样总}}$: 待测样本总体积, 1 mL; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 2×10^{-4} L;

$V_{\text{样}}$: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.02 mL; ϵ : NADH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm; d : 96 孔 UV 板光径, 0.6 cm; 1 cm; Cpr: 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。

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