

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
PYHF3-M48	鸟氨酸转氨酶（OAT）活性检测试剂盒	48T	微量法
PYHF3-M96		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	试剂装量(48T)	试剂装量(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

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL

提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 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 A1_{测定}和 A1_{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_{测定}和 A2_{空白}；计算 $\Delta A_{测定}=A1_{测定}-A2_{测定}$ ， $\Delta A_{空白}=A1_{空白}-A2_{空白}$ ， $\Delta A=\Delta A_{测定}-\Delta A_{空白}$ 。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。

$$\text{计算公式：OAT (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \times 10^9 \div (\varepsilon \times d \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T) \\ = 267.95 \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

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。

$$\text{计算公式：OAT (U/g)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9 \div (\varepsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T) \\ = 267.95 \times \Delta A \div W$$

$V_{\text{样总}}$ ：待测样本总体积，1 mL； $V_{\text{反应}}$ ：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, 0.02mL; ϵ : NADH 摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 96 孔 UV 板光径, 0.6 cm; 1 cm; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间: $600 \text{ s} = 10 \text{ min}$; 10^9 : 单位换算系数, $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

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