



鸟氨酸转氨酶活性检测试剂盒

OAT Assay Kit

微量法

产品编号: AK389M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES389	110mL×1 瓶	4℃保存;
AK389-A	0 mL×1 瓶	4℃保存;
AK389-B	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加 8mL AK389-A 充分溶解; 剩余试剂 4℃保存。
AK389-C	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加 8mL AK389-A 充分溶解; 剩余试剂 4℃保存。
AK389-D	粉剂×2 瓶	-20℃保存; 临用前每瓶加 4mL AK389-A 充分溶解; 现配现用。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

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(Ornithine Aminotransferase, OAT) 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。

原理: 鸟氨酸和 α -酮戊二酸在鸟氨酸转氨酶和 NADH 作用下发生氨基转移反应生成吡咯啉-5-羧酸(P5C), 同时产生 NAD, 通过检测 340nm 处的吸光度的变化可反映出鸟氨酸转氨酶活性的高低。

自备用品:

酶标仪、96 孔板、天平、低温离心机、研钵。

酶液提取:

1. 组织: 按照质量(g): ES389 体积(mL)为 1: 5~10 的比例(建议称取约 0.1g, 加入 1mL ES389)加入 ES389, 冰浴匀浆后于 4℃, 10000g 离心 10min, 取上清置冰上待测。
2. 细胞: 按照细胞数量(10^4 个): ES389 体积(mL)为 500~1000: 1 的比例(建议 500 万细胞加入 1mL ES389), 冰浴超声波破碎细胞(功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 4℃, 10000g 离心 10min, 取上清置冰上待测。
3. 液体样本: 直接检测。

测定步骤:

1. 酶标仪预热 30min, 调节波长至 340nm。
2. 将配好的 AK389-B、AK389-C、AK389-D 37℃预热 5min。(注意: 粉剂试剂需要自行配制)
3. 样本测定(在 96 孔板中加入下列试剂)

试剂名称	测定管 (μ L)
AK389-B	60
AK389-C	60
AK389-D	60
粗酶液	20
充分混匀, 记录 340nm 处初始吸光值和 37℃反应 10min 的吸光值 A2, $\Delta A=A1-A2$ 。	

OAT 酶活性计算:

用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 按照样本蛋白浓度计算

酶活单位定义：每毫克组织蛋白每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{OAT (nmol/min /mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算

酶活单位定义：每克组织每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{OAT (nmol/min /g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

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

$$\text{OAT (nmol/min /}10^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

酶活单位定义：每毫升液体每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{OAT (nmol/min /mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 321.54 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积，0.2mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L / mol / cm}$ ；d：96 孔板光径，

0.5cm；V 样：加入样本体积，0.02mL；V 样总：加入 ES389 体积，1mL；T：反应时间，10 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))