



## 鸟氨酸转氨酶活性检测试剂盒

### OAT Assay Kit

紫外分光光度法

产品编号: AK389U

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

| 编号      | 规格        | 储存条件                                     |
|---------|-----------|------------------------------------------|
| ES389   | 55mL×1 瓶  | 4℃保存;                                    |
| AK389-A | 70 mL×1 瓶 | 4℃保存;                                    |
| AK389-B | 粉剂×1 瓶    | 4℃保存; 临用前加 20mL 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 20mL 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 10mL 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  $\alpha$ -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:

紫外可见分光光度计、1mL 石英比色皿、天平、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水、EP 管。

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. 分光光度计预热 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 1mL 石英比色皿中操作)

| 试剂名称                                                               | 测定管( $\mu$ L) |
|--------------------------------------------------------------------|---------------|
| AK389-B                                                            | 300           |
| AK389-C                                                            | 300           |
| AK389-D                                                            | 300           |
| 粗酶液                                                                | 100           |
| 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：

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。

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

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。

$$\text{OAT (U/g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 160.77 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

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

$$\text{OAT (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T = 160.77 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

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。

$$\text{OAT (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div V_{\text{样}} \div T = 160.77 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积，1mL；ε：NADH 摩尔消光系数，6.22×10<sup>3</sup> L / mol /cm；d：比色皿光径，1cm；V

样：加入样本体积，0.1mL；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；；10<sup>9</sup>：单位换算系数，1mol=10<sup>9</sup>nmol。

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