



## 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 | 20 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：

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板(UV 板)、天平、低温离心机、研钵。

酶液提取：

- 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。
- 细胞：按照细胞数量 (10<sup>4</sup> 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。
- 液体样本：直接检测。

测定步骤：

- 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 340nm。
- 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）
- 样本测定（在 96 孔板中加入下列试剂）

| 试剂名称    | 测定管 (μL) |
|---------|----------|
| 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, △A=A1-A2。

OAT 酶活性计算：

### a.用微量玻璃比色皿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。

$$OAT \text{ (U/mg prot)} = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 160.77 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

#### 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。

$$OAT \text{ (U/g 鲜重)} = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 160.77 \times \Delta A \div W$$

#### 3. 按照细胞数量计算

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

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

#### 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。

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

注：V 反总：反应体系总体积，0.2mL； $\varepsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；d：比色皿光径，1cm；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

### b. 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。

$$OAT \text{ (U/mg prot)} = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

#### 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。

$$OAT \text{ (U/g 鲜重)} = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

#### 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。

$$OAT \text{ (U/}10^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

#### 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。

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

注：V 反总：反应体系总体积，0.2mL； $\varepsilon$ ：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](#))