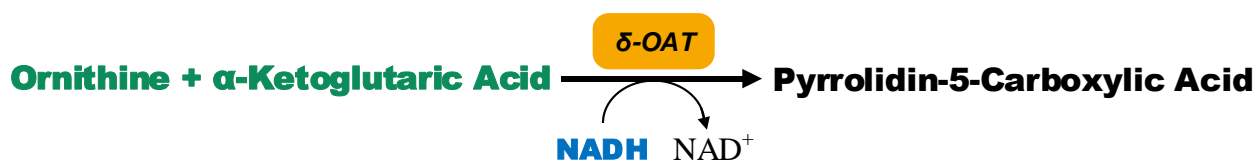




鸟氨酸转氨酶 (δ -OAT) 活性检测试剂盒

Ornithine- δ -Aminotransferase (δ -OAT) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



鸟氨酸转氨酶 (δ -OAT) 活性检测试剂盒Ornithine- δ -Aminotransferase (δ -OAT) Activity Assay Kit

一、产品描述

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。

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。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 40 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C保存	使用前每瓶加入 5 mL 试剂一充分溶解 (配制后 4°C可保存 1 个月)
试剂三	粉剂×2 瓶	4°C保存	使用前每瓶加入 5 mL 试剂一充分溶解 (配制后 4°C可保存 1 个月)
试剂四	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前每瓶加入 10 mL 试剂一充分溶解 (分装后 -20°C可保存 1 周)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂:紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿(光径 10 mm)/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液器/多道移液器、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备(可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

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)处理样品,冰浴匀浆,4°C 10000 g 离心 10 min,取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,按照细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液)处理样品,冰浴超声破碎(功率 300 W,超声 3 s,间隔 7 s,总时间 3 min),4°C 10000 g 离心 10 min,取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本:直接测定或适当稀释后再进行测定。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度或酶标仪计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前根据使用量取出试剂二、试剂三和试剂四，置于 37°C 预热 10 min。
- ③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
试剂二	60	60
试剂三	60	60
试剂四	60	60

吸光值测定：①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；②37°C 准确反应 600 s，测定 610 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 ΔA 测定 = A1 测定 - A2 测定， ΔA 空白 = A1 空白 - A2 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定 - ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.鸟氨酸转氨酶 (δ -OAT) 活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

- ①按组织蛋白浓度计算

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。

$$\delta\text{-OAT (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ②按组织样本质量计算

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。

$$\delta\text{-OAT (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{W}$$

- ③按细菌或细胞数量计算

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

$$\delta\text{-OAT (U}/10^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

- ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\delta\text{-OAT (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 321.54 \times \Delta A$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

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。

$$\delta\text{-OAT (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{160.77 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

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。

$$\delta\text{-OAT (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{160.77 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

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

$$\delta\text{-OAT (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{160.77 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\delta\text{-OAT (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 160.77 \times \Delta A$$

注释： V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L；V 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_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间：600 s = 10 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 10^9 nmol。

四、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；

③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；若使用 96 孔 UV 板需使用多道移液器进行测定，以确保组间反应时间一致；

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。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

