

鸟氨酸转氨酶（OAT）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1086

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌

产品简介

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（ δ -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。在动物体内， δ -OAT 主要参与尿素循环、脯氨酸代谢及氮平衡调节。本试剂盒提供了一种简单的检测方法，用于检测生物样本中 OAT 的活性。其原理是鸟氨酸和 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。NADH 在 340 nm 处有特征吸收峰，而 NAD 没有，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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	55mL	110mL	4℃ 保存
试剂一	15mL	30mL	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃ 保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃ 保存
试剂四	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃ 避光保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 340nm 处的吸光度）及水浴锅

96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：临用前配制，48T 的试剂二瓶中加入 4mL 试剂一充分溶解，在 96T 的试剂二瓶中加入 8mL 试剂一充分溶解；用不完的试剂 4℃ 保存。

试剂三：临用前配制，48T 的试剂二瓶中加入 4mL 试剂一充分溶解，在 96T 的试剂二瓶中加入 8mL 试剂一充分溶解；用不完的试剂 4℃ 保存。

试剂四：临用前配制，每瓶加 4mL 试剂一充分溶解；现配现用。

样本制备

动植物组织样本：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，10,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

产品说明书

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 依次加入 60 μL 试剂二，60 μL 试剂三，60 μL 试剂四，20 μL 样本，迅速混匀，记录 340nm 处初始吸光值 A_1 和 37℃反应 10min 后的吸光值 A_2 ，计算 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 ΔA 大于 0.4，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

A. 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式如下

1. 按照样本质量计算

酶活单位定义：每 g 组织在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位 U。

$$\delta\text{-OAT (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

2. 按照细胞数量计算

酶活单位定义：每 10^4 个细胞或细菌在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位 U。

$$\delta\text{-OAT (U/10}^4 \text{ Cells)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 321.54 \times \Delta A \div 500 = 0.643 \times \Delta A$$

3. 按照样本蛋白浓度计算

酶活单位定义：每毫克组织蛋白在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位 U。

$$\delta\text{-OAT (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div Cpr$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d ：96 孔板光径，0.5cm； 10^9 ：1mol=1×10⁹nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，10min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样品质量，g；500：细菌或细胞总数， 5×10^6 。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中光径 d ：0.5cm 调整为 d ：1cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1081 脯氨酸脱氢酶 (ProDH) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1083 亮氨酸氨基肽酶 (LAP) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1084 谷丙转氨酶/丙氨酸氨基转氨酶 (GPT/ALT) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1085 谷草转氨酶/天冬氨酸氨基转氨酶 (GOT/AST) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1087 吡咯喹-5-羧酸合成酶 (P5CS) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1815 γ -氨基丁酸 (GABA) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1814 谷氨酸脱羧酶 (GAD) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

