

鸟氨酸转氨酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1919

产品规格：100管/96样

产品简介：

鸟氨酸转氨酶是以鸟氨酸为前体合成脯氨酸的关键酶之一，对植物适应逆境胁迫起重要作用。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（P5C），NADH在340nm处有特殊吸收峰，通过检测在340nm处吸光度的变化值，可计算出鸟氨酸转氨酶活性高低。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体110mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体40mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1瓶	-20℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加5mL试剂一，充分溶解；用不完的试剂4℃保存；
2. 试剂三：临用前加5mL试剂一，充分溶解；用不完的试剂4℃保存；
3. 试剂四：每瓶临用前加10mL试剂一，充分溶解，-20℃分装保存；-20℃保存一周。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、微量石英比色皿/96孔UV板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水、EP管。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织样本：按质量（g）：提取液体积（mL）1：5~10比例（建议称取0.1g样本，加入1.0mL提取液）加入提取液，冰浴匀浆后，于4℃，12000rpm，离心10min，取上清液置于冰上待测；
2. 细胞样本：按细胞数量（ 10^4 ）：提取液体积（mL）500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1.0mL提取液）加入提取液，冰浴超声破碎细胞（功率300W，超声3s，间隔7s，总时间3min）；然后于4℃，12000rpm，离心10min，取上清液置于冰上待测；
3. 液体样本：直接测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，波长调至340nm，蒸馏水调零。
2. 将配好的试剂二、三、四置于37℃预热10min（用多少，预热多少）
3. 操作表：（在微量石英比色皿/96孔UV板中操作）

试剂名称（ μ L）	测定管	空白管
试剂二	60	60



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂三	60	60
试剂四	60	60
样本	20	-
蒸馏水	-	20

在微量石英比色皿/96孔UV板中分别加入上述试剂，充分混匀后于340nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37℃水浴锅或培养箱10min（酶标仪有控温功能可将温度调至37℃或25℃），拿出迅速擦干测定10min10s时的吸光值A2，计算 $\Delta A_{测定管} = A1_{测定} - A2_{测定}$ ， $\Delta A_{空白管} = A1_{空白} - A2_{空白}$ ， $\Delta A = \Delta A_{测定管} - \Delta A_{空白管}$ 。空白管只需做1-2次。

注意：加入样本时开始计时。

三、 δ -OAT酶活计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

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

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

(2) 按样本质量计算

酶活单位定义：每克组织每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

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

(3) 按样本细胞数量计算

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

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

(4) 按样本液体体积计算

酶活单位定义：每毫升液体每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位

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

V反总：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：微量石英比色皿光径，1cm/96孔UV板光径，0.6cm；；V样：加入样本体积，0.02mL；V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：样本质量，g； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{mol} = 10^9 \text{nmol}$ 。

注意事项：

1. ΔA 高于0.5时，建议将样本稀释后检测，并在计算公式中乘以稀释倍数。若 ΔA 过小时，可以加大样本量或者延长酶促反应时间。
2. 将试剂依次加入后应尽量快速混匀并测定OD值，减少误差时间。
3. ΔA 空白管一般不会超过0.05。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com