



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

鸟氨酸转氨酶活性检测试剂盒(微量法)

货号: R42032

规格: 100T/96S

有效期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES389	110mL×1瓶	4℃保存;
试剂-A	0mL×1瓶	4℃保存;
试剂-B	粉剂×1瓶	4℃保存; 临用前加8mL 试剂-A充分溶解; 剩余试剂4℃保存。
试剂-C	粉剂×1瓶	4℃保存; 临用前加8mL试剂-A充分溶解; 剩余试剂4℃保存。
试剂-D	粉剂×2瓶	-20℃保存; 临用前每瓶加4mL试剂-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:

酶标仪、96 孔板、天平、低温离心机、研钵。

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°C, 10000g 离心 10min, 取上清置冰上待测。

2. 细胞: 按照细胞数量 (10⁴ 个): ES389 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mLES389), 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°C, 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. 酶标仪预热 30min, 调节波长至 340nm。

2. 将配好的 试剂-B、试剂-C、试剂-D 37°C 预热 5min。 (注意: 粉剂试剂需要自行配制)

3. 样本测定 (在 96 孔板中加入下列试剂):

试剂名称	测定管(μL)
试剂-B	60
试剂-C	60
试剂-D	60
粗酶液	20
充分混匀, 记录340nm处初始吸光值和37°C反应10min的吸光值A2, $\Delta A = A_1 - A_2$ 。	

OAT 酶活性计算:

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。

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

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。



$$\text{OAT (nmol/min /g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T =$$

$$321.54 \times \Delta A \div W$$

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。

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

$$321.54 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

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。

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

注: $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.2mL; ϵ : NADH 摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L / mol / cm}$; d : 96 孔板光径, 0.5cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; $V_{\text{样总}}$: 加入 ES389 体积, 1mL; T : 反应时间, 10 min; C_{pr} : 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。

源叶