

CheKine™ 鸟氨酸转氨酶 (δ-OAT) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1421

规格: 48 T/48 S 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细菌、血清 (浆) 或其他液体
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

鸟氨酸转氨酶 (δ-OAT, EC 2.6.1.13) 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。

本试剂盒检测原理是鸟氨酸和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 340 nm 处有特殊吸收峰, 通过检测在 340 nm 处吸光度的变化值, 可计算出鸟氨酸转氨酶活性高低。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60×2 mL	4℃
Reagent I	20 mL	40 mL	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
Reagent IV	Powder×1 vial	Powder×2 vials	-20℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	PBS	清洗样本用
其他	匀浆器或研钵（组织样本）、超声破碎仪、低温离心机、水浴锅、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 **2-3** 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3002 的蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Reagent II	临用前配制；48 T 加入 4 mL Reagent I，96 T 加入 8 mL Reagent I，充分溶解待用	使用前置于 37℃ 预热 5 min；未用完的试剂 4℃ 避光保存 1 个月
Working Reagent III	临用前配制；48 T 加入 4 mL Reagent I，96 T 加入 8 mL Reagent I，充分溶解待用	使用前置于 37℃ 预热 5 min；未用完的试剂 4℃ 避光保存 1 个月
Working Reagent IV	临用前配制；每瓶加 10 mL Reagent I，充分溶解待用	使用前置于 37℃ 预热 5 min；未用完的试剂 -20℃ 避光分装保存 1 周，避免反复冻融

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把完整细胞或者分装的组织块保存在 -80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从 -80℃ 拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。

- 动植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，10000 g，4℃ 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

- **细菌：**收集 5×10^6 个细菌，用冷 PBS 清洗细菌，800 g 离心 2 min，弃上清液。加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细菌 3 min（功率 30%或 300 W，超声 3 s，间隔 7 s），然后 10000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **血清（浆）等液体样本：**直接检测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备：**预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. **检测体系配制：**在 96 孔 UV 板中按照如下方式操作（加入样本时开始计时，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）：

试剂	测定孔（μL）
样本上清	20
Working Reagent II	60
Working Reagent III	60
Working Reagent IV	60

3. **吸光度检测：**混匀后，记录 340 nm 处 10 s 时的吸光值 A_1 ，迅速置于 37℃避光孵育 10 min，测定 10 min 10 s 时的吸光值 A_2 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A=A_1-A_2$ 。

2. 样本δ-OAT 活力的计算：

- 按样本鲜重计算：

酶活单位定义：每克样本每分钟消耗 1 nmol NADH 为 1 个酶活单位。

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

- 按细菌数量计算：

酶活单位定义：每 10^4 细菌每分钟消耗 1 nmol NADH 为 1 个酶活单位。

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

- 按蛋白浓度计算：

酶活单位定义：每毫克蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 为 1 个酶活单位。

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

- 按样本体积计算：

酶活单位定义：每毫升液体每分钟消耗 1 nmol NADH 为 1 个酶活单位。

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

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔吸光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； 10^9 ：1 mol= 10^9 nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；T：反应时间，10 min；N：细菌数量，以 10^4 为单位（例如细菌

数量为 5×10^6 , N=500)。

07 结果展示

示例-1: 取 0.106 g 烟草叶, 按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A = A_1 - A_2 = 1.143 - 1.128 = 0.015$, 按样本鲜重计算得: $\delta\text{-OAT}(\text{U/g}) = 321.54 \times \Delta A \div W = 45.5 \text{ U/g}$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 ΔA 过高或者过低怎么办?

如果样本 $\Delta A > 0.5$, 样本需用 Extraction Buffer 适当稀释, 再重新测定, 或减少提取用样本量。如果样本的 $\Delta A < 0.01$, 可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1410	CheKine™ 谷丙转氨酶 (ALT/GPT) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1420	CheKine™ 谷草转氨酶 (AST/GOT) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB4021	CheKine™ 亮氨酸氨基肽酶 (LAP) 活性检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 鸟氨酸转氨酶 (δ-OAT) 活性检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB1421)

