



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

精氨酸脱羧酶(ADC)活性检测试剂盒

紫外分光光度法

货号: R43842-24S

产品简介:

精氨酸脱羧酶(ADC, EC 4.1.1.19)是多数植物体内催化游离态多胺合成的关键酶,与植物逆境生理有一定关系。

精氨酸脱羧酶(ADC)催化底物精氨酸生成产物胍丁胺,通过衍生剂使产物胍丁胺衍生化,该衍生物在254nm处有最大吸收峰。通过检测254nm处吸光值变化得出ADC酶活大小。

试剂盒组成和配置:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体30mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体15mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体1.5mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	液体5mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	液体15mL×1瓶	4℃保存	
试剂五	液体0.3mL×1瓶	4℃保存	
试剂六	液体30mL×1瓶	4℃保存	
标准品	液体1mL×1支	4℃保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL石英比色皿(光径1cm)、可调式移液器、天平、低温离心机、水浴锅、乙醇、乙酸乙酯、甲醇。

精氨酸脱羧酶(ADC)活性测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!



1、样本制备:

称取约0.2g组织, 加入1mL 经预冷的95%乙醇冰浴匀浆, 4℃放置10min;12000rpm, 4℃离心5min;弃上清, 留沉淀, 向沉淀中加入经预冷的80%乙醇混匀, 4℃放置10min; 12000rpm,4℃ 离心5min; 弃上清, 留沉淀。再向沉淀中加入1mL 经预冷提取液, 涡旋 混匀, 4℃放置10min;12000rpm,4℃ 离心5min; 留上清, 弃沉淀。上清液置冰上待测。

2、上机检测:

①紫外分光光度计调至254nm。试剂一和二可于37℃孵育5min。在EP管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管
样本	150	150
试剂一	300	300
混匀, 于37℃条件下孵育5min		
试剂二	50	
蒸馏水		50
混匀, 于37℃条件下孵育1小时。		
试剂三	100	100
混匀, (若浑浊则于8000g条件下室温离心10min),上清液待检测。		

②在EP管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管
上清液	300	300
试剂四	300	300
试剂五	6	6
快速手动或涡旋仪混匀20秒, 于40℃条件下孵育50min(期间振荡混匀3-5次, 每次30秒)。		
试剂六	600	600
上下颠倒混匀约1分钟。		
乙酸乙酯	700	700

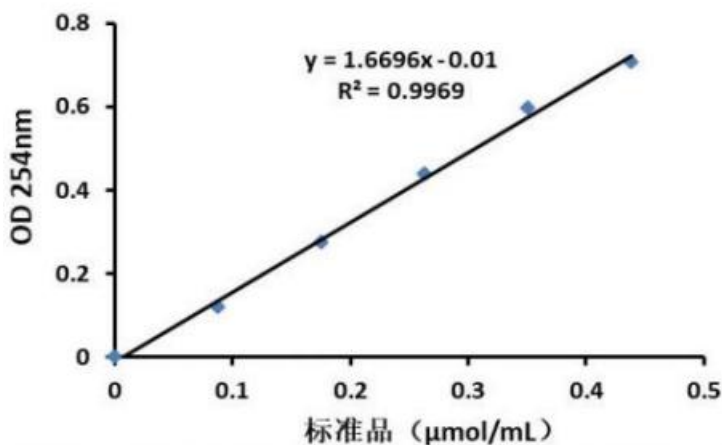
上下颠倒混匀约1分钟后(试剂最好上下充分混匀好几次),12000rpm室温离心3min使试剂上下分层,取出0.5mL上层液体至EP管中,接着用氮吹仪吹干,最后向沉淀中加入750μL甲醇使沉淀完全溶解(可用涡旋振荡仪或超声仪),最后取出全部澄清液体至1mL石英比色皿(光径1cm)中于254nm处读取吸光值A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

【注】1.若 $A > 1.8$,可对最后一步甲醇溶解液体再用甲醇稀释后测定,则稀释倍数D带入公式计算。

2. $\Delta A < 0.01$, 则可加大样本取样质量W; 或增加样本加样体积V1 (由150μL增至300 μL 或更多,则试剂一相应减少);或延长孵育时间T (由1小时增至2小时),则改变后的W 和V1 和 T 需带入公式重新计算。

结果计算:

1、标准曲线: $y = 1.6696x - 0.01$; x 是标准品摩尔浓度(μmol/mL), y 是 ΔA 。



1、按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每小时催化1μmol 精氨酸生成胍丁胺定义为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{ADC}(\mu\text{mol/h/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.01) \div 1.6696 \times 0.6] \div (\text{Cpr} \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 2.4 \times (\Delta A + 0.01) \div \text{Cpr} \times D \end{aligned}$$

2、按样本质量计算:



酶活定义: 每克组织每小时催化1 μ mol 精氨酸生成胍丁胺定义为一个酶活单位。

$$\text{ADC}(\mu\text{mol/h/g 鲜重})=[(\Delta A+0.01)\div 1.6696\times 0.6]\div (W\times V1\div V)\div T\times D$$
$$=2.4\times (\Delta A+0.01)\div W\times D$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---样本加入体积, 0.15mL;

W--- 样本质量, g;

T--- 反应时间, 1小时;

D---稀释倍数, 未稀释即为1;

0.6---第①步中反应总体积, mL;

标准品分子量----28.27;

Cpr---样本蛋白浓度, mg/mL; 建议使用本公司的BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附: 标准曲线制作过程:

1 把标准品母液(2mg/mL)。依据第②步操作, 甲醇复溶后再用甲醇稀释20倍后作为

最高浓度母液, 再用甲醇往下稀释5个浓度梯度, 根据结果即可制作标准曲线。