



Octopine脱氢酶(ODH)活性测定试剂盒

紫外分光光度法

货号: R45063-48S

产品简介:

海洋无脊椎动物主要存在4种无氧代谢途径,其中葡萄糖-opine 途径在无氧代谢初期发挥了重要作用,无脊椎动物中特有的 Opine 脱氢酶 (OpDHs) 保证了这一过程的顺利进行。Octopine 脱氢酶 (ODH;EC 1.5.1.11)是Opine 脱氢酶 (OpDHs) 系列酶中的一种。

Octopine 脱氢酶 (ODH) 催化丙酮酸和特异底物精氨酸反应生成相应的亚氨基酸,同时使NADH 发生氧化,通过检测NADH 在特征吸收波长340nm 处的下降速率即可得出 ODH 酶活性大小。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂mg×2支	-20℃保存	使用前甩几下或离心使粉剂落入底部,每支分别加0.55mL蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20℃保存,禁止反复冻融,一周内用完。
试剂二	液体μL×1支	4℃保存	使用前甩几下或离心使试剂落入底部,再加1.1mL蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体32mL×1瓶	4℃保存	

所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿(光径1cm)、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

Octopine 脱氢酶 (ODH) 活性测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,了解本批样品情况,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0.1g 组织样本，加入1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

【注】:若增加样本量，可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取

2、上机检测:

①紫外分光光度计预热30min 以上，调节波长至340nm, 蒸馏水调零。

②在1mL石英比色皿(光径1cm)中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管
样本	60
试剂一	20
试剂二	20
试剂三	600
混匀，室温(25℃)下，于340nm读取吸光值 A1,5min后读取吸光值A2， $\Delta A = A1 - A2$ 。	

结果计算:

1、按样本蛋白浓度计算:

定义：每毫克组织蛋白在每分钟内氧化1nmol NADH所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{ODH}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \\ = 375.13 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按样本鲜重计算:

定义：每克组织在每分钟内氧化1nmol NADH 所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{ODH}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ = 375.13 \times \Delta A \div W$$

V---加入提取液体积，1mL;



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

V1---加入样本体积, 0.06mL;

V2---- 反应体系总体积, 7×10^{-4} L;

d---光径, 1cm;

ϵ ---NADH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm;

W---样本质量, g;

T---反应时间, 5min;

Cpr--- 蛋白浓度 (mg/mL), 建议使用本公司的BCA 蛋白含量测定试剂盒。



源叶