

精氨酸脱羧酶(ADC)活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA2691

产品规格：24样

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。

产品内容：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	液体1.5mL×1瓶	2-8℃	
试剂三	液体5mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体15mL×1瓶	2-8℃	
试剂五	液体0.3mL×1瓶	2-8℃	
试剂六	液体30mL×1瓶	2-8℃	
标准品	液体1mL×1瓶	2-8℃	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，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. 样品制备

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），上清液待测。		

③ 在EP管中依次加入：



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

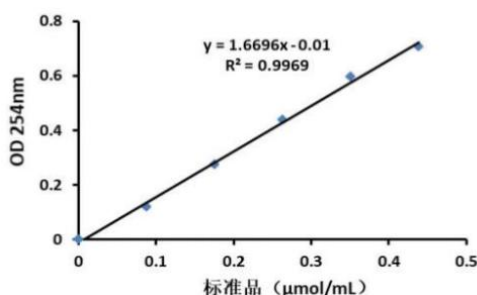
http://www.saint-bio.com

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)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300μL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:

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



- 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。

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

$$= 2.4 \times (\Delta A + 0.01) \div \text{Cpr} \times D$$

- 按样本质量计算:

酶活定义: 每克组织每小时催化1μmol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; 标准品分子量---228.27; 0.6---第①步中反应总体积, mL; 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:

- 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。



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