

精氨酸脱羧酶(ADC)活性检测试剂盒（微板法）

产品货号：BA2690

产品规格：48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60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	液体3mL×1瓶	2-8℃	
试剂三	液体10mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂五	液体0.7mL×1瓶	2-8℃	
试剂六	液体60mL×1瓶	2-8℃	
标准品	液体1mL×1支	2-8℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔UV板、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 酶标仪调至波长至254nm。试剂一和二可于37℃C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：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
上清液	300	300
试剂四	300	300



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

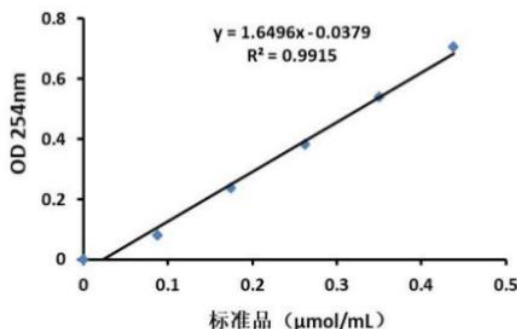
邮箱：zzlybio@126.com

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400μL甲醇使沉淀完全溶解(可用涡旋振荡仪或超声仪)，最后取出200 μL液体至96孔UV板中于254nm处读取吸光值A， $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$ 。		

【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： $y = 1.6496x - 0.0379$ ，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。

$$\begin{aligned} \text{ADC}(\mu\text{mol/h/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0379) \div 1.6496 \times 0.6] \div (\text{Cpr} \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 2.43 \times (\Delta A + 0.0379) \div \text{Cpr} \times D \end{aligned}$$

- 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。

$$\begin{aligned} \text{ADC}(\mu\text{mol/h/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0379) \div 1.6496 \times 0.6] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 2.43 \times (\Delta A + 0.0379) \div W \times D \end{aligned}$$

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

郑州乐业生物科技有限公司
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd
地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799
Q Q: 807961520 731791866
邮箱：zzlybio@126.com