

鸟氨酸脱酶(ODC)活性检测试剂盒（微板法）

产品货号：BA2718

产品规格：48样

产品简介：

鸟氨酸脱酶(ODC, EC4.1.1.17)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。

鸟氨酸脱酶(ODC)催化底物鸟氨酸生成产物腐胺，通过衍生剂使产物腐胺衍生化，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ODC酶活大小。

产品内容：

产品名称	规格	保存条件	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。

自备材料：

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。

鸟氨酸脱酶(ODC)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：

① 组织样本：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。上清液置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为2:5~10的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细菌或细胞加入1mL经预冷的95%乙醇，冰浴超声波破碎细菌或细胞(冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次)；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。上清液置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4 个):提取液(mL)为500~1000:1比例进行提取。

2. 上机检测：

① 酶标仪调至254nm

② 试剂一和二可于37℃孵育5-15min。

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
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。		
试剂二	100	100
混匀，（若浑浊则于8000g条件下室温离心10min），上清液待检测。		

④ 在EP管中依次加入：

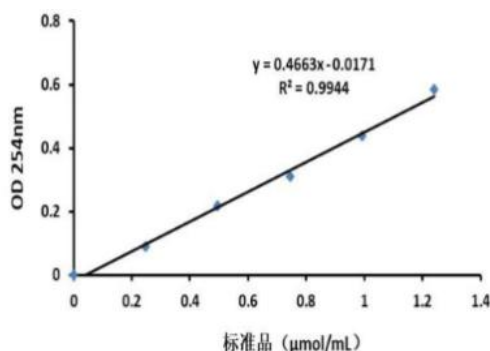
试剂名称(μL)	测定管	对照管
上清液	300	300
试剂四	300	300
试剂五	6	6
快速手动或涡旋仪混匀20秒，于40℃条件下孵育50min(期间振荡混匀3-5次，每次30秒)。		
试剂六	600	600
上下颠倒混匀约1分钟。		
乙酸乙酯	700	700
上下颠倒混匀约1分钟后(试剂最好上下充分混匀好几次)，12000rpm室温离心3min使试剂上下分层，取出0.5mL上层液体至EP管中，接着用氮吹仪吹干，最后向沉淀中加入400μL甲醇使沉淀完全溶解(可用涡旋振荡仪或超声仪)，最后取出200μL液体至96孔UV板中于254nm处读取吸光值A， $\Delta A = A$ 测定-A对照(每个样本做一个对照)。		

【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W；或增加加样体积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：

1. 标准曲线： $y = 0.4663x - 0.0171$ ；x是标准品摩尔浓度(μmol/mL)，y是 ΔA 。



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

2. 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1 μ mol鸟氨酸生成腐胺定义为一个酶活单位。

$$\text{ODC}(\mu\text{mol/h/mg prot})=[(\Delta A+0.0171)\div 0.4663\times 0.6]\div (\text{Cpr}\times V1\div V)\div T\times D=8.58\times (\Delta A+0.0171)\div \text{Cpr}\times D$$

3. 按样本质量计算:

酶活定义: 每克组织每小时催化1 μ mol鸟氨酸生成腐胺定义为一个酶活单位。

$$\text{ODC}(\mu\text{mol/h/g 鲜重})=[(\Delta A+0.0171)\div 0.4663\times 0.6]\div (W\times V1\div V)\div T\times D=8.58\times (\Delta A+0.0171)\div W\times D$$

4. 按细胞数量计算:

酶活定义: 每10⁴个细胞每小时催化1 μ mol鸟氨酸生成腐胺定义为一个酶活单位。

$$\text{ODC}(\mu\text{mol/h}/10^4\text{cell})=[(\Delta A+0.0171)\div 0.4663\times 0.6]\div (500\times V1\div V)\div T\times D=8.58\times (\Delta A+0.0171)\div 500\times D$$

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--- 161.07; 500---细胞数量, 万; 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10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>