

腺苷脱氨酶(ADA)检测试剂盒(波氏比色法)

产品简介:

腺苷脱氨酶(Adenosine Deaminase, ADA)是嘌呤核苷代谢中重要的酶类,属于一种巯基酶,每分子至少含2个活性巯基,ADA能催化腺嘌呤核苷转变为次黄嘌呤核苷,再经核苷磷酸化酶作用生成次黄嘌呤,其代谢缓和终产物为尿酸,ADA广泛分布于人体各组织中,以胸腺、脾和其他淋巴组织中含量最高,而肝、肺、肾和骨骼肌等含量低。

Biorigin 腺苷脱氨酶(ADA)检测试剂盒(波氏比色法)其检测原理是待测样品中的ADA催化腺嘌呤核苷水解脱氨,产生次黄嘌呤核苷和铵离子,利用波氏显色法测定铵离子生成量,其反应公式为:腺苷+H₂O→次黄嘌呤+NH₃,通过分光光度计检测640nm处吸光度,根据计算公式可得ADA活力,100T试剂盒可检测约50个样品。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

| 名称 | 编号 | BN27202 | Storage |
|---------------------------|----|---------|---------|
| | | 100T | |
| 试剂(A): 氨氮标准(1mg/ml) | | 1ml | 4°C |
| 试剂(B): 底物缓冲液 | | 10ml | 4°C |
| 试剂(C): 波氏 ADA 显色液 | | 100ml | 4°C 避光 |
| 试剂(D): ADA Assay Buffer | | 100ml | 4°C 避光 |
| 试剂(E): ddH ₂ O | | 10ml | RT |
| 使用说明书 | | | |

自备材料:

- 1、离心管或小试管
- 2、水浴锅、分光光度计、比色杯

操作步骤(仅供参考):

1、准备样品:

- ①血浆、血清样品: 血浆、血清按照常规方法制备,可以直接用于该试剂盒的测定, -20°C冻存,用于ADA的检测。
- ②细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织进行匀浆,低速离心取上清, -20°C冻存,用于ADA的检测。
- ③高活性样品: 如果样品中含有较高活性的ADA,可以使用ddH₂O稀释。

本产品仅用于科研

④(选做)样品准备完毕后可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的 ADA 含量。

- 2、稀释标准品：用 ddH₂O 准确稀释氨氮标准(1mg/ml)至 25μg/ml，即为氨氮标准工作液(25μg/ml)，4°C保存备用。
- 3、ADA 加样：按照下表设置空白管、标准管、对照管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。

| 加入物(ml) | 空白管 | 标准管 | 对照管 | 测定管 |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| ddH ₂ O | 0.008 | — | — | — |
| 氨氮标准工作液(25μg/ml) | — | 0.008 | — | — |
| 待测样品(如血清等) | — | — | 0.008 | 0.008 |
| 底物缓冲液 | 0.1 | 0.1 | — | 0.1 |
| 混匀，对照管和测定管 37°C准确水浴 60min。 | | | | |
| 底物缓冲液 | — | — | 0.1 | — |
| 波氏 ADA 显色液 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ADA Assay Buffer | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 混匀，37°C水浴显色 30min。 | | | | |

- 4、ADA 测定：以 ddH₂O 调零，比色杯光径 1cm，分光光度计 640nm 处测定吸光度(分别为 A_{空白}、A_{标准}、A_{对照}、A_{测定})。

计算：

ADA 活性单位的定义：在 37°C 1ml 血清中 ADA 1h 催化底物产生 1μg 氨氮为一个 ADA 酶活力单位。

$$\text{血清、血浆中 ADA 活力(U/L)} = (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 25$$

$$\text{组织中 ADA 活力(U/mg)} = [(A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 25] / \text{待测样品的蛋白浓度(mg/ml)}$$

式中： A_{测定} = 测定管的吸光度

A_{对照} = 对照管的吸光度

A_{标准} = 标准管的吸光度

A_{空白} = 空白管的吸光度

注意事项：

- 1、稀释样品和研磨样品所用水，均应为 ddH₂O，不可为普通的水。
- 2、如果采用国际单位，需在测得活力单位基础上乘以 1.19。
- 3、如果没有分光光度计，也可用酶标仪测定，但应注意加入试剂量不同，相应的检测次

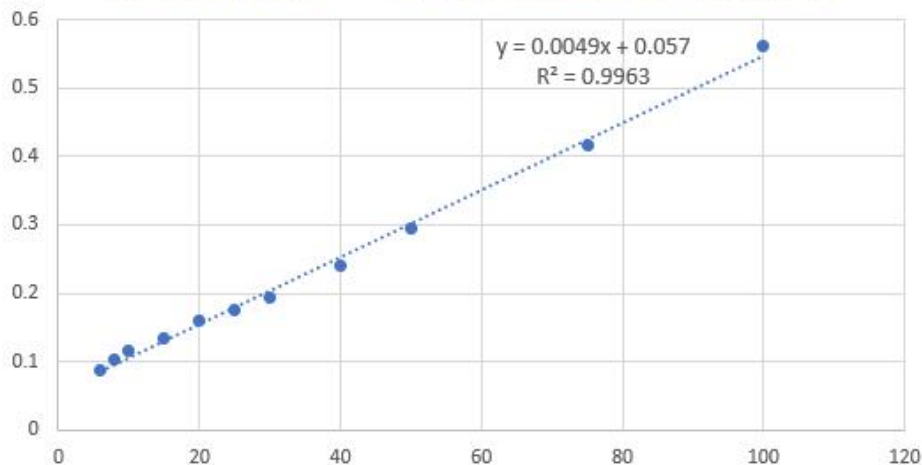
数会大大增加。

- 4、该试剂盒测定下限在 2~5 $\mu\text{g/ml}$ 之间；从肉眼观察，一般情况下浓度在 15~30 $\mu\text{g/ml}$ 即可显淡蓝色；浓度 $\geq 30\mu\text{g/ml}$ 可显蓝色。
- 5、胸水标本经离心后取上清，置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用，ADA 活性可稳定 1 周。
- 6、血清样本应避免溶血，4 $^{\circ}\text{C}$ 保存 3 天。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 8、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6 个月有效；低温运输，按要求保存。

附录：参考标准曲线范围：Biorigin 测定氨氮标准在 2、4、6、8、10、15、20、25、30、40、50、75、100 $\mu\text{g/ml}$ 时吸光度，据此 Biorigin 作出其标准曲线如下：

腺苷脱氨酶(ADA)检测试剂盒(波氏微板法)



注意：采用酶标仪未调零情况下，Biorigin 空白参考范围在 0.05~0.09 之间，25 $\mu\text{g/ml}$ 标准参考范围在 0.13~0.25 之间，由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算 ADA 含量的，可以采用标准曲线进行多点测定；根据 Biorigin 测定经验显示标准品浓度在 5 $\mu\text{g/ml}$ 以下，标准曲线会有偏差。

相关产品：

| 产品编号 | 产品名称 |
|---------|----------------|
| BN20740 | 苏木素伊红(HE)染色试剂盒 |
| BN20175 | GUS染色液 |
| BN25011 | RIPA 裂解液(强) |