

腺苷脱氨酶(ADA)检测试剂盒(波氏微板法)

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, 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。

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, 通过分光光度法(酶标仪)测定 640nm处吸光度, 根据计算公式可得 ADA 活力, 100T 试剂盒可测 50~55 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	ADS085TE0	Storage
	100T		
试剂(A): 氨氮标准(1 mg/ml)		1ml	4°C
试剂(B): 底物缓冲液		1.5ml	4°C
试剂(C): 波氏 ADA 显色液		15ml	4°C 避光
试剂(D): ADA Assay Buffer		15ml	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、酶标仪、96 孔板

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 的测定。
- 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 的测定。

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。

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℃保存备用。

3、ADA 加样：按照下表设置空白孔、标准孔、对照孔、测定孔，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(μl)	空白孔	标准孔	对照孔	测定孔
ddH ₂ O	1	—	—	—
氨氮标准工作液(25μg/ml)	—	1	—	—
待测样品(如血清等)	—	—	1	1
底物缓冲液	12.5	12.5	—	12.5
混匀，对照孔和测定孔 37℃准确水浴 60min。				
底物缓冲液	—	—	12.5	—
波氏 ADA 显色液	125	125	125	125
ADA Assay Buffer	125	125	125	125
混匀，37℃水浴显色 30min。				

4、ADA 测定：以 ddH₂O 调零，酶标仪 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℃ 1ml 血清中 ADA 1h 催化底物产生 1μg 氨氮为一个 ADA 酶活力单位。

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

组织中 ADA 活力(U/mg) = [(A_{测定} - A_{对照}) / (A_{标准} - A_{空白}) × 25] / 待测样品的蛋白

浓度(mg/ml) 式中： A_{测定} = 测定孔的吸光度

A_{对照} = 对照孔的吸光度

A_{标准} = 标准孔的吸光度

A_{空白} = 空白孔的吸光度

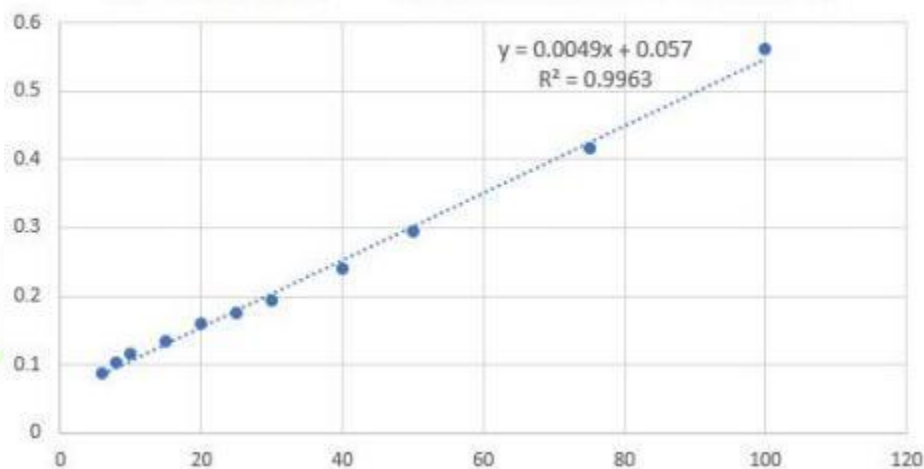
注意事项

- 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、 如果没有酶标仪，也可用分光光度计测定，但应注意加入试剂量不同，相应的检测次数会大大减少。
- 4、 该试剂盒测定下限在 2~5μg/ml 之间；从肉眼观察，一般情况下浓度在 15~30μg/ml 即可显淡蓝色；浓度≥30μg/ml 可显蓝色。
- 5、 胸水标本经离心后取上清，置于 4℃保存备用，ADA 活性可稳定 1 周。
- 6、 血清样本应避免溶血，4℃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：测定氨基标准在 2、4、6、8、10、15、20、25、30、40、50、75、100μg/ml 时吸光度，据此 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，空白参考范围在 0.05~0.09 之间，25μg/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；根据测定经验显示标准品浓度在 5μg/ml 以下，标准曲线会有偏差。