

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 | ADS035TE0 100T | Storage |
|---------------------------|-------------------|---------|
| 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(1 mg/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ADA1h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： $A_{\text{测定}}$ = 测定孔的吸光度

$A_{\text{对照}}$ = 对照孔的吸光度

$A_{\text{标准}}$ = 标准孔的吸光度

$A_{\text{空白}}$ = 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。

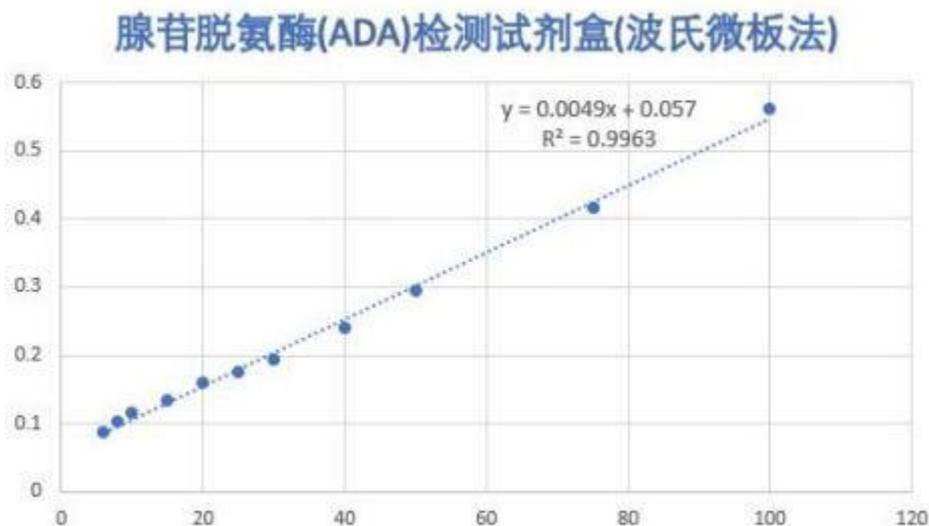
4、该试剂盒测定下限在2~5μg/ml之间；从肉眼观察，一般情况下浓度在15~30μg/ml即可显淡蓝色；浓度≥30μg/ml可显蓝色。

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。

有效期：6个月。低温运输，按要求保存

附录：参考标准曲线范围：测定氨氮标准在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：



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。