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、肾和骨胳肌等含量低。

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氨离子生成量，其反应公式为：腺苷+H_2O→次黄嘌呤+NH_3，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:

编号 / 名称	GCTE0231 100T	Storage
试剂(A): 氨氮标准(1mg/ml)	1ml	4℃
试剂(B): 底物缓冲液	1.5ml	4℃
试剂(C): 波氏 ADA 显色液	15ml	4℃ 避光
试剂(D): ADA Assay Buffer	15ml	4℃ 避光
试剂(E): ddH_2O	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℃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℃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 ddH_2O 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 ddH_2O 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_2O	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 ddH_2O 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)=$(A_{测定}-A_{对照})/(A_{标准}-A_{空白})\times 25$

组织中 ADA 活力(U/mg)=$[(A_{测定}-A_{对照})/(A_{标准}-A_{空白})\times 25]$/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 ddH_2O，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。

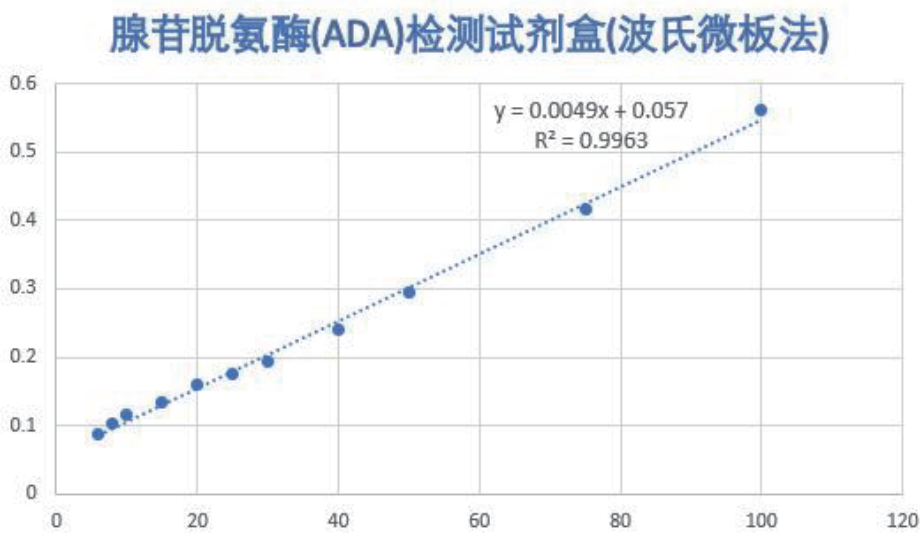
6、 血清样本应避免溶血，4℃保存 3 天。

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。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCDH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCTC1187	肌酐(Cr)检测试剂盒(PA 速率微板法)
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)