

腺苷脱氨酶 (ADA) 检测试剂盒(波氏微板法)

产品货号: BA1738

产品规格: 100T

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,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
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 ₂ O	50ml	室温

需自备的仪器和用品:

离心管或小试管、水浴锅、96孔板、酶标仪。

操作步骤:

1. 准备样品:

- ①血浆、血清样品: 血浆、血清按照常规方法制备,可以直接用于本试剂盒的测定, -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,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	5	-	-	-
氨氮标准工作液(25μg/ml)	-	5	-	-
待测样品(如血清等)	-	-	5	5
底物缓冲液	12.5	12.5	-	12.5



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

混匀37℃准确水浴60min。				
底物缓冲液(ml)	-	-	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_{对照}、A_{标准}、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。

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. 采用分光光度计未调零情况下，空白参考范围在0.05~0.09之间，25μg/ml标准参考范围在0.13~0.18之间，由于仪器设备、操作方法以及工作环境不同，参考范围会有差异。
5. 该试剂盒测定下限在2~5μg/ml之间，测定上限在70~90μg/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≤15μg/ml可显淡黄色；浓度≥30μg/ml可显蓝色，一般情况下接近上限比接近下限更准确。
6. 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。
7. 血清样本应避免溶血，4℃保存3天。

有效期：6个月有效。4℃运输，4℃保存。



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