

## 腺苷脱氨酶 (ADA)活性测定试剂盒 (微板法)

产品货号: BA2837

产品规格: 96样

### 产品简介:

腺苷脱氨酶 (ADA, EC3.5.4.4) 是一种巯基酶, 是嘌呤核苷酸代谢的关键酶, 与机体细胞的免疫活性有重要关系。

腺苷脱氨酶 (ADA) 催化腺嘌呤核苷水解, 产生次黄嘌呤核苷和氨, 利用氨在强碱的环境下与次氯酸盐和苯酚作用, 生成水溶性染料靛酚蓝, 溶液颜色稳定。其在630nm处有特征吸收峰, 通过检测氨增加的速率, 即可计算该酶活性大小。

### 试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体100mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	粉剂mg×2瓶	2-8°C	临用前甩几下使粉体落入底部, 每瓶再加11mL蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体20mL×1瓶	2-8°C	
试剂四	液体12mL×1瓶	2-8°C	
试剂五	液体6mL×1瓶	2-8°C	
试剂六	A: 液体3.5mL×4瓶 B: 液体μL×1支	2-8°C	临用前取30μL的B液进一瓶A液中, 4°C保存混匀后作为试剂六使用。混匀后的试剂六一周内用完。
标准管	液体mL×1支	2-8°C	若重新做标曲, 则用到该标曲。

### 需自备的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、台式离心机、可调式移液枪、研钵、冰和蒸馏水。

### 腺苷脱氨酶 (ADA) 活性测定:

#### 1. 样本制备:

- 1) 组织样本: 称取约 0.1g 组织 (水分足的样本可取 0.2-0.5g), 加入 1mL 提取液; 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 也可以按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例提取。

- 2) 液体样本: 直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

#### 2. 上机检测:

- 1) 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 630nm。
- 2) 所有试剂解冻至室温 (25°C), 在 EP 管依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	40	40
试剂一	100	100
试剂二	100	
试剂三		100
混匀, 放入 37°C水浴锅或恒温培养箱中孵育 30min		
试剂三	100	
试剂二		100
混匀, 室温 12000rpm 离心 5min, 上清液待测。		

- 3) 显色反应: 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

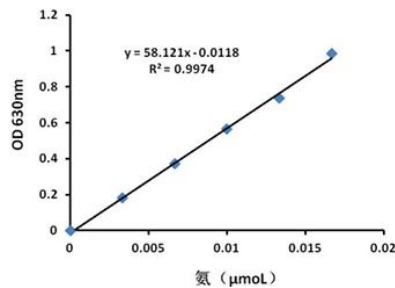
上清液（上步反应）	30	30
蒸馏水	30	30
试剂四	60	60
试剂五	30	30
试剂六	60	60
充分混匀，37°C放置 20min 后，于 630nm 处读取吸光值 A， $\Delta A=A$ 测定管-A 对照管（每个样本做一个自身对照）。		

**【注】**

1. 试剂四和五和六需分开加，不能事先混匀。
2. 若 $\Delta A$  的值较小，可增加 37°C 孵育时间（如增至 1 小时或更长），或在显色阶段增加上清液量 V1（如增至 60 $\mu$ L，则蒸馏水体积相应减少）；则改变后的 T 和 V1 需代入计算公式重新计算。
3. 若 A 测定大于 1.5，可减少 37°C 孵育时间（如减至 10min 或更短），或在显色阶段减少上清液量 V1（如减至 15 $\mu$ L，则蒸馏水体积相应增加）；则改变后的 T 和 V1 需代入公式重新计算。

**结果计算：**

1. 标准曲线方程为  $y=58.121x-0.0118$ ；x 为标准品摩尔质量（ $\mu$ mol），y 为吸光值  $\Delta A$ 。



2. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白质每小时催化腺苷生成 1 $\mu$ mol 氨定义为一个酶活力单位。

$$ADA(\mu\text{mol/h/mg prot}) = (\Delta A + 0.0118) \div 58.121 \times (V2 \div V3) \div (V1 \times Cpr) \div T$$

$$= 9.75 \times (\Delta A + 0.0118) \div Cpr$$

3. 按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每小时催化腺苷生成 1 $\mu$ mol 氨定义为一个酶活力单位。

$$ADA(\mu\text{mol/h/g 鲜重}) = (\Delta A + 0.0118) \div 58.121 \times (V2 \div V3) \div (W \times V1 \div V) \div T$$

$$= 9.75 \times (\Delta A + 0.0118) \div W$$

4. 按照液体体积计算：

单位定义：每毫升液体每小时催化腺苷生成 1 $\mu$ mol 氨定义为一个酶活力单位。

$$ADA(\mu\text{mol/h/mL}) = (\Delta A + 0.0118) \div 58.121 \times (V2 \div V3) \div V1 \div T = 9.75 \times (\Delta A + 0.0118) \div W$$

V---提取液体积，1mL；

V1----加入②步反应体系中样本体积，0.04mL；

V2---②步反应体系总体积：0.34mL；

V3---③步显色步骤中上清液体积，0.03mL；

T---反应时间，0.5h；

W---样本质量；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 标准品母液（10 $\mu$ g/mL 的氨（分子量是 18）），把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0,2,4,6,8,10 $\mu$ g/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
2. 按照显色反应阶段的测定管加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com