

## 腺苷含量检测试剂盒（可见分光光度法）

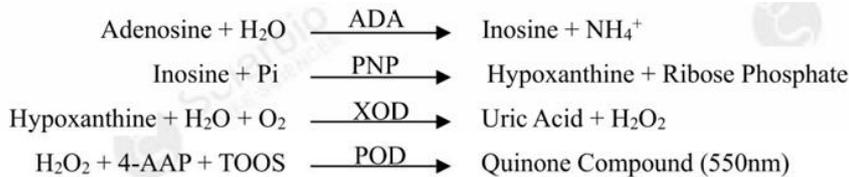
产品货号：BA3487

产品规格：50T/24S

### 产品简介：

腺苷(Adenosine, EC200-389-9)是一种遍布人体细胞的内源性核苷，可直接进入心肌经磷酸化生成腺苷酸，参与心肌能量代谢，扩张冠脉血管，增加血流量，可用于治疗室上性心动过速。腺苷对心血管系统和肌体的许多其它系统及组织均有生理作用。腺苷是用于合成三磷酸腺苷(ATP)、腺嘌呤、腺苷酸、阿糖腺苷的重要中间体。

腺苷在腺苷脱氨酶(ADA)作用下水解为肌苷，肌苷在嘌呤核苷磷酸化酶(PNP)催化下水解，生成次黄嘌呤和磷酸核糖。次黄嘌呤在黄嘌呤氧化酶(XOD)作用下产生过氧化氢，过氧化氢在过氧化物酶(POD)、4-氨基安替比林及色源的作用下，产生紫红色物质，在波长550nm处有最大吸收，通过检测紫红色物质产生量可以得到腺苷含量。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体30mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体5mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×3支	-20℃
试剂二	液体45mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体20mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃
标准品稀释液	液体10mL×1瓶	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂一：临用前取一支试剂一用 8mL 试剂二溶解，现用现配，剩余试剂可在 2-8℃ 避光保存 2 周(该试剂为冻干试剂，可能存在肉眼观察试剂量相差较大甚至量很少的现象，此现象不影响使用，实际质量相同)；测定管工作液：根据样本数量按照试剂一：试剂三=6.5mL：3mL(共 9.5mL，10S)的比例配制，临加样前现配现用，当天用完。
2. 对照管工作液：根据样本数量按照试剂二：试剂三=6.5mL：3mL(共 9.5mL，10S)的比例配制，临加样前现配现用，当天用完。
3. 标准品：临用前加入 8mL 标准品稀释液配制成 12.5μmol/mL 腺苷标准品，现用现配，剩余试剂可在 2-8℃ 保存 2 周。
4. 0.2μmol/mL 标准品：取 100μL 的 12.5μmol/mL 腺苷溶液，加入 900μL 蒸馏水，配制成 1.25μmol/mL 腺苷溶液；取 160μL 的 1μmol/mL 腺苷溶液，加入 840μL 蒸馏水，配制成 0.2μmol/mL 标准品，现用现配。

### 所需的设备和材料：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。



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

### 操作步骤:

#### 一、样本提取:

1. 组织:按照质量(g):提取液一体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g,加入 1mL 提取液一),冰浴匀浆后,4°C 8000g 离心 10min,取 0.8mL 上清液,再缓慢加入 0.15mL 提取液二,缓慢吹打混匀至无气泡产生,4°C 8000g 离心 10min 后取上清置冰上待测。
2. 细胞/细菌:按照细胞/细菌数量( $10^6$  个):提取液一体积(mL)为 5~10:1 的比例(建议 5 百万细胞/细菌加入 1mL 提取液一),冰浴超声波破碎细胞/细菌(功率 200w,超声 3 秒,间隔 7 秒,总时间 3min);4°C 8000g 离心 10min,取 0.8mL 上清液,再缓慢加入 0.15mL 提取液二,缓慢吹打混匀至无气泡产生,4°C 8000g 离心 10min 后取上清置冰上待测。
3. 血浆/血清等液体样本:直接检测。如有浑浊,可 8000g,4°C 离心 10min,取上清使用。

注:提取液二需缓慢加入,加入后会产生大量气泡,建议使用 2mL EP 管进行操作。

#### 二、测定步骤:

1. 可见分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 550nm,蒸馏水调零。
2. 实验前将试剂一、试剂三平衡至常温。
3. 操作表(在 EP 管中反应):

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	150	150	-	-
标准品	-	-	150	-
蒸馏水	-	-	-	150
测定管工作液	950	-	950	950
对照管工作液	-	950	-	-

迅速混匀,37°C 下反应 30min 后,在 550nm 下测定吸光度值(10min 内测定完成),分别记为 A 测定、A 对照、A 标准、A 空白。计算:  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。标准管和空白管只需测定 1-2 次。

#### 三、腺苷含量计算

1. 按照样本蛋白浓度计算

$$\text{腺苷含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) \times F$$

$$= 0.2375 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F$$

2. 按照样本质量计算:

$$\text{腺苷含量}(\mu\text{mol}/\text{g 质量}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (W \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) \times F$$

$$= 0.2375 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F$$

3. 按细胞或细菌数量计算

$$\text{腺苷含量}(\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (N \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) \times F$$

$$= 0.2375 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times F$$

4. 按液体体积计算

$$\text{腺苷含量}(\mu\text{mol}/\text{mL}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times F = 0.2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$$

C 标准: 0.2μmol/mL; V 上清: 提取时上清液体积, 0.8mL; V 提取液一: 加入提取液一体积, 1mL; V 提取液二: 加入提取液二体积, 0.15mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL(需要另外测定); W: 样本质量, g; N: 细胞或细菌总数, 以百万计; F: 样本稀释倍数。

#### 注意事项:

1. 实验前用 1~2 个样本做预实验, 如果 A 测定大于 1, 建议将样本用蒸馏水适当稀释后再进行测定。如果  $\Delta A$  测定数值过小, 可增大样本量, 但需同步调整标准管和空白管。注意同步修改计算公式。
2. 该试剂盒的反应试剂中含有较多种类的酶, 受反应温度影响较大, 如果分批次实验, 需保证使用同一控温设



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: zzybio@126.com

备，以尽可能减小实验操作误差。

3. 本试剂盒已通过提取液完全消除样本中可能含有的过氧化氢的影响，通过设置对照组来尽可能消除样本中可能含有的肌苷(次黄嘌呤核苷)、次黄嘌呤两者的影响，最大程度的保证所测得的数据为样本中的腺苷含量。血浆或血清等液体样本仅通过对照组即可消除其他物质干扰。
4. 本试剂盒的提取液会使蛋白变性，如要通过样本蛋白浓度计算，请单独重新提取样本。

#### 实验实例：

1. 取 0.1055g 大鼠心脏，按照说明书提取方法进行样本提取，提取的样本上清用蒸馏水稀释 2 倍，按照测定步骤操作，用 1mL 玻璃比色皿测定， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.705 - 0.052 = 0.653$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.57 - 0.411 = 0.159$ ，按样本质量计算：

腺苷含量( $\mu\text{mol/g}$  质量) =  $0.2375 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F = 1.0963 \mu\text{mol/g}$  质量。

2. 取 0.1057g 兔肾脏，按照说明书提取方法进行样本提取，提取的样本上清用蒸馏水稀释 2 倍，按照测定步骤操作，用 1mL 玻璃比色皿测定， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.705 - 0.052 = 0.653$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.680 - 0.476 = 0.204$ ，按样本质量计算：

腺苷含量( $\mu\text{mol/g}$  质量) =  $0.2375 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F = 1.4039 \mu\text{mol/g}$  质量。



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