



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

腺苷脱氨酶(ADA)检测试剂盒(波氏微板法)

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、脾和其他淋巴组织含量最高,而肝、肺、肾和骨骼肌等含量低。

源叶生物 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。

组成:

名称 \ 编号	R22208 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 ₂ O	10ml	RT
使用说明书	1 份	

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(1mg/ml)至 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 即为氨氮标准工作液(25 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 4°C 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(25 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	—	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°C 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°C 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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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 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) = $[(A_{测定} - A_{对照}) / (A_{标准} - A_{空白}) \times 25] / \text{待测样品的蛋白浓度(mg/ml)}$

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:

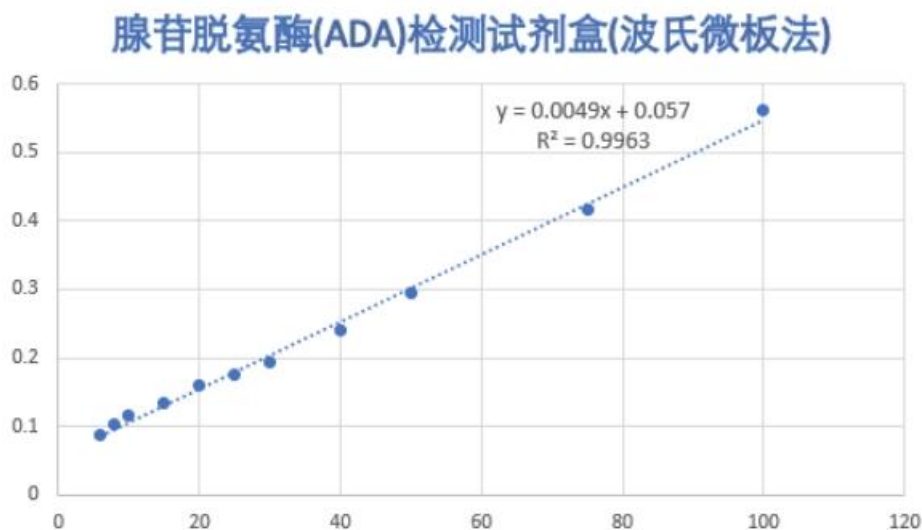
- 1、稀释样品和研磨样品所用水, 均应为 ddH₂O, 不可为普通的水。
- 2、如果采用国际单位, 需在测得活力单位基础上乘以 1.19。
- 3、如果没有酶标仪, 也可用分光光度计测定, 但应注意加入试剂量不同, 相应的检测次数会大大减少。
- 4、该试剂盒测定下限在 2~5μg/ml 之间; 从肉眼观察, 一般情况下浓度在 15~30μg/ml 即可显淡蓝色; 浓度 ≥ 30μg/ml 可显蓝色。
- 5、胸水标本经离心后取上清, 置于 4℃ 保存备用, ADA 活性可稳定 1 周。
- 6、血清样本应避免溶血, 4℃ 保存 3 天。

有效期: 6 个月有效; 4℃ 运输, 4℃ 保存。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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、100 $\mu\text{g/ml}$ 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，25 $\mu\text{g/ml}$ 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 5 $\mu\text{g/ml}$ 以下，标准曲线会有偏差。