



胞苷脱氨酶(CDA)检测试剂盒(波氏微板法)

产品简介:

胞苷脱氨酶(Cytidine Deaminase, CDA)是一种含锌的金属蛋白酶,其核心作用机制是催化胞嘧啶及其核苷、核苷酸衍生物发生水解性脱氨反应,将其转化为相应的尿嘧啶衍生物。广泛分布于人体肝、肺、肾中,此外在胎盘、脾脏等组织中也有分布。

胞苷脱氨酶(CDA)检测试剂盒(波氏微板法)其检测原理是待测样品中的 CDA 催化胞嘧啶及其核苷、核苷酸衍生物水解脱氨,产生尿嘧啶衍生物和铵离子,利用波氏显色法测定铵离子生成量,其反应公式为:胞苷+H₂O→尿苷+NH₃,通过分光光度法(酶标仪)测定 630nm 处吸光度,根据计算公式可得 CDA 活力。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:

名称	编号	R24699 100T	Storage
试剂(A): 氨氮标准(1mg/ml)		1ml	4℃
试剂(B): 底物缓冲液		20ml	4℃
试剂(C): 蛋白沉淀剂 A		8mL	RT 避光
试剂(D): 蛋白沉淀剂 B		8mL	RT
试剂(E): CDA 显色液		12ml	4℃ 避光
试剂(F): CDA Assay Buffer		12ml	4℃ 避光
使用说明书		一份	

自备材料:

- 1、离心管或小试管、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 CDA 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 CDA 的测定。
 - ③高活性样品:如果样品中含有较高活性的 CDA,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 CDA 含量。
- 2、稀释标准品:用 ddH₂O 准确稀释氨氮标准(1mg/ml)至 20μg/ml,即为氨氮标准工作液(20μg/ml),4℃保存备用。
- 3、CDA 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)	空白管	标准管	对照管	测定管
---------	-----	-----	-----	-----



氨氮标准工作液(20μg/ml)	—	40	—	—
待测样品(如血清等)	—	—	40	40
底物缓冲液	200	160	160	160
混匀, 对照管煮沸灭活 10min。再将对照管和测定管 37℃准确水浴保温 4h。				
蛋白沉淀剂 A	80	80	80	80
蛋白沉淀剂 B	80	80	80	80
混匀, 3000r/min, 离心 5min。以下操作直接在 96 孔板中进行。				
上清液	40	40	40	40
CDA 显色液	120	120	120	120
CDA Assay Buffer	120	120	120	120
混匀, 37℃孵育 30min。				

4、CDA 测定: 酶标仪 630nm 处测定吸光度(分别为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$)。

计算:

CDA 活性单位的定义: 在 37℃ 1ml 血清中 CDA 1h 催化底物产生 1μg 氨氮为一个 CDA 酶活力单位。

血清、血浆中 CDA 活力(U/L) = $(A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 20 \times N$

组织中 CDA 活力(U/g) = $(A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 20 \times N / c$
= $(A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 20 \times V \times N / m$

$A_{\text{测定}}$ --- 测定孔的吸光度

$A_{\text{对照}}$ --- 对照孔的吸光度

$A_{\text{标准}}$ --- 标准孔的吸光度

$A_{\text{空白}}$ --- 空白孔的吸光度

N --- 样本稀释倍数

c --- 待测样品蛋白质浓度(mg/ml=g/L)

V --- 待测样品提取液总体积(L)

m --- 组织样本质量(g)

注意事项:

- 1、稀释样品和研磨样品可用去离子水或生理盐水。
- 2、该试剂盒测定下限在 1μg/ml; 从肉眼观察, 一般情况下浓度在 2~20μg/ml 即可显淡蓝色; 浓度 ≥ 30μg/ml 可显蓝色。
- 3、血清样本应避免溶血, 4℃保存 3 天。
- 4、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 5、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。