

腺苷脱氨酶(ADA)检测试剂盒(波氏比色法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

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，ADA 广泛分布于人体各组织中，以胸腺、脾和其他淋巴组织中含量最高，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，通过分光光度计检测 640nm 处吸光度，根据计算公式可得 ADA 活力，100T 试剂盒可测约 50 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。

产品组成：

名称	规格	保存条件
腺苷脱氨酶(ADA)检测试剂盒	100T	4℃
试剂(A):氨氮标准(1mg/ml)	1ml	4℃
试剂(B):底物缓冲液	10ml	4℃
试剂(C):波氏 ADA 显色液	100ml	4℃避光
试剂(D):ADA Assay Buffer	100ml	4℃避光
试剂(E):ddH ₂ O	10ml	RT
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

自备材料：

- 1、离心管或小试管
- 2、水浴锅、分光光度计、比色杯

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 ADA 的检测。

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 的检测。

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 μg/ml，即为氨氮标准工作液(25 μg/ml)，4℃保存备用。

3、ADA 加样：按照下表设置空白管、标准管、对照管、测定管，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(ml)	空白管	标准管	对照管	测定管
ddH ₂ O	0.008	—	—	—
氨氮标准工作液(25 μg/ml)	—	0.008	—	—
待测样品(如血清等)	—	—	0.008	0.008
底物缓冲液	0.1	0.1	—	0.1
混匀，对照管和测定管 37℃准确水浴 60min。				
底物缓冲液	—	—	0.1	—
波氏 ADA 显色液	1	1	1	1
ADAAssayBuffer	1	1	1	1
混匀，37℃水浴显色 30min。				

4、ADA 测定：以 ddH₂O 调零，比色杯光径 1cm，分光光度计 640nm 处测定吸光度(分别为 A 空白、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 ADA1h 催化底物产生 1 μg 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=测定管的吸光度

A 对照=对照管的吸光度

A 标准=标准管的吸光度

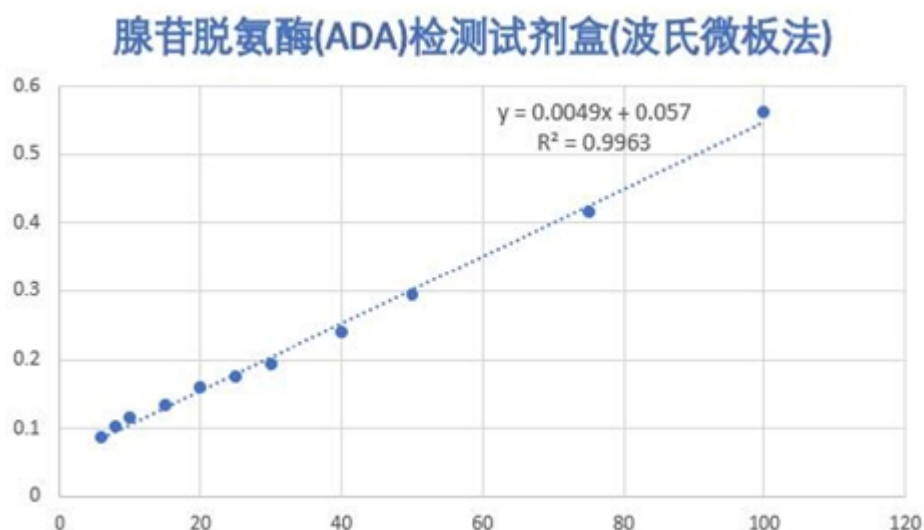
A 空白=空白管的吸光度

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、如果没有分光光度计，也可用酶标仪测定，但应注意加入试剂量不同，相应的检测次数会大大增加。
- 4、该试剂盒测定下限在 $2\sim 5\ \mu\text{g/ml}$ 之间；从肉眼观察，一般情况下浓度在 $15\sim 30\ \mu\text{g/ml}$ 即可显淡蓝色；浓度 $\geq 30\ \mu\text{g/ml}$ 可显蓝色。
- 5、胸水标本经离心后取上清，置于 4°C 保存备用，ADA 活性可稳定 1 周。
- 6、血清样本应避免溶血， 4°C 保存 3 天。

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。