

ADA 检测方法
(Adenosine Deaminase)
S10185

1 原理



adenosine 的消耗可以通过 265nm 的光吸收进行检测。

2 试剂:

A: 1.4 mM 腺苷溶液

B 50mM 磷酸钠缓冲液, pH 7.4

C 酶稀释液为 B 溶液

3 操作规程:

3.1 仪器参数设定

若仪器中无已保存参数, 按以下参数设定。若已有相关参数, 调取后确认。

检测方法: 动力学扫描

测量波长: 265nm 测量时间: 90s

延迟时间: 30s 积分时间: 60s

系数/因子: 18.52 测量温度: 25±0.5℃

3.2 样品准备

若待测样品为固体, 可以按 10mg 样品/1000ul 超纯水比例溶解。溶解后于 2-8 度放置 30min。

3.3 检测方法

3.3.1 在石英比色皿中加入 2.88ml 试剂 B 和 100ul 试剂 A, 温浴 2min。

3.3.2 加入 20ul 样品, 温和混匀后开始测定。

3.3.3 测定结束后, 记录相应数值: 起始读数、 $\Delta A/\text{min test}$ 、活性值 (U/ml), 检测过后的比色皿需反复冲洗, 以防止本底的产生。

3.3.4 活性值 (U/ml) 范围为 0.6-1.0U/ml, 若超出范围, 待测样品需经试剂 C 稀释后再次进行检测。

3.3.5 测定样品前需检测空白反应值, 即其他操作不变, 用 20ul C 代替样品加入比色皿后进行反应, 测定 $\Delta A/\text{min blank}$ 。

3.3.6 计算公式 活性(U/ml) = $(\Delta A/\text{min test} - \Delta A/\text{min blank}) \times 18.52 \times \text{df}$ (稀释倍数)