

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

**产品货号：E-BC-K810-M**

**产品规格：96T(40 samples)**

**检测仪器：酶标仪(430-470 nm)**

## **Elabscience®醛酮还原酶(ARKs)比色法试剂盒**

### **Aldo-Keto Reductase (ARKs) Activity Assay Kit**

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：[biochemical@elabscience.cn](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址：[www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。  
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

## 用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)、动物组织中醛酮还原酶(ARKs)的酶活。

## 检测原理

醛酮还原酶(Aldo-keto reductase, ARKs)分布于原核生物和真核生物中,存在多种亚型。ARKs 可催化 NADPH 依赖性的羰基还原反应,生成相应的醇。研究表明,ARKs 与多种癌症相关。本试剂盒的作用原理是底物被 ARKs 催化,生成产物与显色剂反应产生的显色物质在 450 nm 处有特征吸收峰,通过检测单位时间内显色物质生成量,可计算样品中的 ARKs 酶活大小。

本试剂盒检测组织样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式(Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	20 mL×1 瓶	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	0.2 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	标准品 (Standard)	粉剂×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明:试剂严格按上表中的保存条件保存,不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂,使用前请先离心,以免量取不到足够量的试剂。

## 所需自备物品

**仪器:**酶标仪(最佳检测波长为 450 nm)、37℃恒温培养箱

**试剂:**生理盐水(0.9% NaCl)、双蒸水

## 试剂准备

① 检测前，所有试剂需要平衡至25℃。

② 显色剂工作液的配制：

按试剂一：试剂二体积比=160:1混匀。例如，取4 mL试剂一，加入25  $\mu\text{L}$ 试剂二，混匀，即得到显色剂工作液，按此方法配制的显色剂工作液可供约22个孔添加。按需配制，需避光保存，10 min内使用。

③ 500  $\mu\text{mol/L}$ 标准品的配制：

取一支试剂三，加入2 mL的双蒸水，充分溶解并混匀，得到500  $\mu\text{mol/L}$ 的标准品。按需配制，需避光保存，2 h内使用。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度( $\mu\text{mol/L}$ )	0	100	200	250	300	350	400	500
500 $\mu\text{mol/L}$ 标准品( $\mu\text{L}$ )	0	40	80	100	120	140	160	200
双蒸水( $\mu\text{L}$ )	200	160	120	100	80	60	40	0

## 样本准备

### ① 样本处理

血清(浆)样本：直接测定。

组织样本：按组织样本质量(g): 生理盐水(0.9% NaCl)体积(mL) = 1: 9的比例进行匀浆。4°C, 10000 × g离心10 min后取上清待测，需留取部分上清进行蛋白浓度测定。

### ② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.05 - 45.00 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肾组织	不稀释	10%小鼠肝组织	不稀释
10%小鼠脑组织	不稀释	10%小鼠肺组织	不稀释
10%小鼠心组织	不稀释	小鼠血浆	不稀释

注：稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)。

## 实验关键点

显色剂工作液的使用和配制过程中注意避光，10 min 内使用。

## 操作步骤

- ① 向标准孔中加入 20  $\mu\text{L}$  不同浓度标准品；  
向测定孔、对照孔中加入 20  $\mu\text{L}$  样本。
- ② 向标准孔、测定孔中加入 180  $\mu\text{L}$  显色剂工作液；  
向对照孔中加入 180  $\mu\text{L}$  试剂一。
- ③ 37 $^{\circ}\text{C}$ 下避光孵育 30 min，酶标仪于 450 nm 处检测各孔的 OD 值。

## 操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
标准品( $\mu\text{L}$ )	20	--	--
样本( $\mu\text{L}$ )	--	20	20
试剂一( $\mu\text{L}$ )	--	--	180
显色剂工作液( $\mu\text{L}$ )	180	180	--
37 $^{\circ}\text{C}$ 下避光孵育 30 min，酶标仪于 450 nm 处检测各孔的 OD 值。			

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

## 结果计算

标准品拟合曲线:  $y = ax + b$

组织样本中醛酮还原酶(ARKs)活力计算公式:

定义: 37°C条件下, 每克样本蛋白每分钟催化底物生成 1  $\mu\text{mol}$  的 NADPH 所需要的酶量为一个酶活单位。

$$\text{ARKs 活力 (U/gprot)} = (\Delta A_{\text{测}} - b) \div a \div t \div C_{\text{pr}} \times f \div 1000$$

血清(浆)中醛酮还原酶(ARKs)活力计算公式:

定义: 37°C条件下, 每升血清样本每分钟催化底物生成 1  $\mu\text{mol}$  的 NADPH 所需要的酶量为一个酶活单位。

$$\text{ARKs 活力 (U/L)} = (\Delta A_{\text{测}} - b) \div a \div t \times f \div 1000$$

**注解:**

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标准曲线的斜率

b: 标准曲线的截距

$\Delta A_{\text{测}}$ : 测定孔 OD 值-对照孔 OD 值,  $A_{\text{测}} - A_{\text{对}}$

t: 反应时间, 30 min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

$C_{\text{pr}}$ : 待测样本的蛋白浓度, gprot/L

1000: 单位换算, 1 mmol/L=1000  $\mu\text{mol/L}$

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

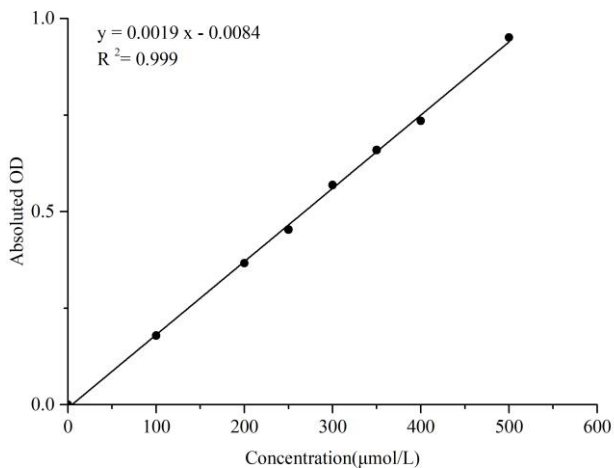
检测范围	0.05-45.00 U/L	批间差	7.1-10%
检测灵敏度	0.05 U/L	批内差	1.9-4.8%
稀释回收率	94-105%		

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20  $\mu\text{L}$ , 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

标准品浓度 ( $\mu\text{mol/L}$ )	0	100	200	250	300	350	400	500
OD 值	0.054	0.234	0.422	0.51	0.635	0.688	0.795	1.016
	0.053	0.231	0.418	0.504	0.61	0.738	0.782	0.993
平均 OD 值	0.054	0.233	0.420	0.507	0.623	0.713	0.789	1.005
绝对 OD 值	0	0.179	0.367	0.454	0.569	0.660	0.735	0.951

② 绘制标准曲线(如下图):



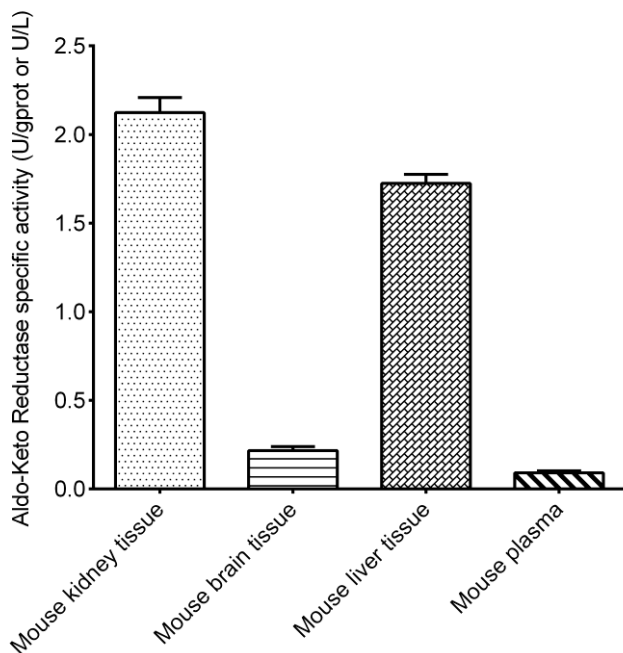
## 附录2 实例分析

例如检测10%小鼠肾组织(数据仅供参考):

取10%小鼠肾组织匀浆上清液20  $\mu\text{L}$ , 按操作表操作, 结果如下: 标准曲线:  $y = 0.0014x - 0.0154$ , 测定孔平均值 $A_{\text{测}} = 0.885$ , 对照孔平均 $A_{\text{对}} = 0.248$ ,  $\Delta A_{\text{测}} = 0.885 - 0.248 = 0.637$ , 10%小鼠肾组织匀浆蛋白浓度为7.32 gprot/L计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{ARKs活力(U/gprot)} &= (0.885 - 0.248 + 0.0154) \div 0.0014 \div 30 \div 7.32 \\ &= 2.122 \text{ U/gprot} \end{aligned}$$

按说明书操作, 测定小鼠肾组织(10%组织匀浆蛋白浓度7.32 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、小鼠脑组织(10%组织匀浆蛋白浓度4.29 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、小鼠肝组织(10%组织匀浆蛋白浓度7.32 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、小鼠血浆(加样量20  $\mu\text{L}$ )中ARKs活性(如下图):





### 附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
背景值过高	底物与显色液反应	显色工作液现配现用，严格避光。

#### 声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。





