（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-K833-M

产品规格：96T(40 samples)

检测仪器：酶标仪(330-350 nm)

Elabscience®腺苷比色法测试盒

Adenosine Colorimetric 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
网址：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(植)物组织和细胞中腺苷的含量。

检测原理

腺苷(Adenosine)是一种遍布人体细胞的内源性核苷，可直接进入心肌经磷酸化生成腺苷酸，参与心肌能量代谢，同时还参与扩张冠脉血管，增加血流量。腺苷对心血管系统和肌体的许多其它系统及组织均有生理作用，同时在体外还具有促进人毛囊生长和毛乳头细胞增殖的作用。

本试剂盒的检测原理是酶催化腺苷反应产生的物质消耗 NADH，体系在 340 nm 处 OD 值下降，通过计算 340 nm 处的下降速率可以计算腺苷的含量。

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)	25 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	1 mL×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	1.5 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	促进剂 (Accelerant)	粉剂×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	催化剂 (Catalyst)	1.5 mL×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	10 mmol/L 标准品 (10 mmol/L Standard)	0.5 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔紫外酶标板	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(330-350 nm，最佳检测波长 340 nm)、超声仪

耗材：10 KD 超滤管

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25 ℃。

② 试剂四工作液的配制：

取一支试剂四加入0.75 mL的试剂一溶解，置于冰上避光待用，未用完部分-20 ℃下可避光保存5天。

③ 反应工作液的配制：

将试剂一：试剂三：试剂四工作液：试剂五按体积比 ＝20：2：1：4配制，现配现用，置于冰上避光待用，当天使用有效。

④ 1 mmol/L 标准品的配制：

将试剂六：试剂一按体积比 ＝1：9配制，稀释后的标准品溶液置于冰上避光待用，2天内使用有效。

⑤ 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(mmol/L)	**0**	**0.2**	**0.4**	**0.5**	**0.6**	**0.8**	**0.9**	**1**
1 mmol/L 标准品(μL)	0	40	80	100	120	160	180	200
试剂一(μL)	200	160	120	100	80	40	20	0

样本准备

① 样本处理

血清(浆)：取血清(浆)于10 KD超滤管中(4 ℃，12000 ×g，离心25 min)超滤，取外管中的滤出液置于冰盒上待测，1天内使用为宜。

动(植) 物组织样本：按照组织样本质量(g)：双蒸水体积(mL) = 1:9的比例匀浆(如0.1 g组织样本，加入0.9 mL双蒸水)。4 ℃，10000 ×g，离心10 min，取上清于10 KD超滤管中(4 ℃，12000 ×g，离心25 min)超滤，取外管中的滤出液2-8 ℃保存待测，1天内使用为宜。

细胞样本：取1×10^6个细胞加入0.2 mL双蒸水超声或匀浆破碎。4 ℃，10000 ×g，离心10 min，取上清于10 KD超滤管中(4 ℃，12000 ×g，离心25 min)超滤，取外管中的滤出液2-8 ℃保存待测，1天内使用为宜。

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：0.027-1.000 mmol/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%小鼠肝组织	不稀释	10%小鼠肾组织	不稀释
1×10^6 个 HL-60 细胞	不稀释	1×10^6 个 293T 细胞	不稀释
小鼠血浆	不稀释	人血清	不稀释
大鼠血清	不稀释		

注：稀释液为双蒸水。

操作步骤

① 标准孔：取 40 μL 不同浓度标准品溶液加入相应的酶标孔中。

测定孔：取 40 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。

对照孔：取 40 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。

② 向步骤①中的标准孔和测定孔中加入 20 μL 试剂二。

向步骤①中的对照孔中加入 20 μL 试剂一。

③ 向步骤②中的各孔中加入 160 μL 反应工作液。

④ 振板 5 s，酶标仪 340 nm 波长下检测各孔 OD 值 A_1，25 ℃ 孵育 10 min 后检测各孔 OD 值 A_2，$\Delta A = A_1 - A_2$（若样本检测的变化 OD 值小于 0.005，可延长孵育时间 5-10 min 检测)。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度标准品(μL)	40	--	--
待测样本(μL)	--	40	40
试剂一(μL)	--	--	20
试剂二(μL)	20	20	--
反应工作液(μL)	160	160	160
振板 5 s，酶标仪 340 nm 波长下检测各孔 OD 值 A_1，25 ℃ 孵育 10 min 后检测各孔 OD 值 A_2，$\Delta A = A_1 - A_2$ (若样本检测的变化 OD 值小于 0.005，可延长孵育时间 5-10 min 检测)。			

结果计算

标准曲线：y = ax + b

血清或血浆样本中腺苷含量计算公式：

$$腺苷含量\ (mmol/L) = (\Delta A_{340} - b) \div a \times f$$

动(植)物组织样本中腺苷含量计算公式：

$$腺苷含量\ (mmol/kg\ tissue) = (\Delta A_{340} - b) \div a \div m \times v \times f$$

细胞样本中腺苷含量计算公式：

$$腺苷含量\ (\mu mol/10^6) = (\Delta A_{340} - b) \div a \div n \times v \times f$$

注解：

y：标准品 ΔA - 空白孔 ΔA(标准品浓度为 0 时的 ΔA，$\Delta A = A_1 - A_2$)

x：标准品的浓度

a：标准曲线的斜率

b：标准曲线的截距

ΔA_{340}：$\Delta A_{340} = \Delta A_{测定} - \Delta A_{对照}$，$\Delta A = A_1 - A_2$

m：样本质量，kg

n：细胞个数，10^6

v：加入的样本匀浆液的体积，L

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

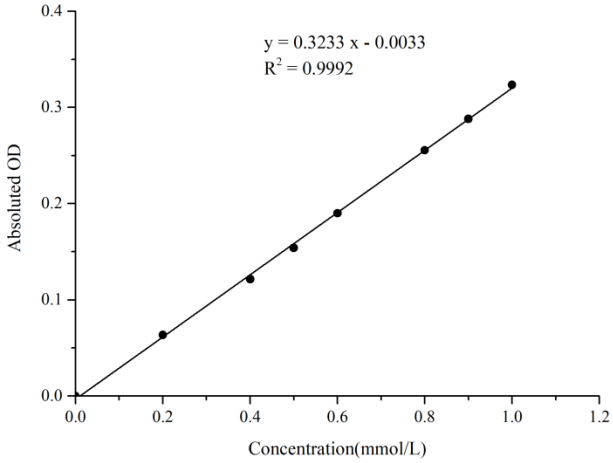
检测范围	0.027-1.000 mmol/L	**批间差**	1.9-6.8%
灵敏度	0.027 mmol/L	**批内差**	3.5-5.8%
加标回收率	94-101%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度的标准品加样量为40 μL，按照操作表进行操作记录OD值，结果如下：

标准品浓度 (mmol/L)	**0**	**0.2**	**0.4**	**0.5**	**0.6**	**0.8**	**0.9**	**1**
A_1 值	1.873	1.849	1.816	1.811	1.788	1.753	1.745	1.746
	1.873	1.840	1.802	1.796	1.785	1.767	1.759	1.754
A_2 值	1.870	1.783	1.691	1.652	1.595	1.496	1.454	1.418
	1.870	1.773	1.678	1.641	1.592	1.507	1.468	1.429
ΔA	0.003	0.067	0.124	0.155	0.193	0.257	0.291	0.328
	0.003	0.067	0.125	0.157	0.193	0.260	0.291	0.325
平均 ΔA 值	0.003	0.067	0.125	0.157	0.193	0.259	0.291	0.327
绝对 ΔA 值	0	0.064	0.122	0.154	0.190	0.256	0.288	0.324

② 绘制标准曲线，如下图所示：



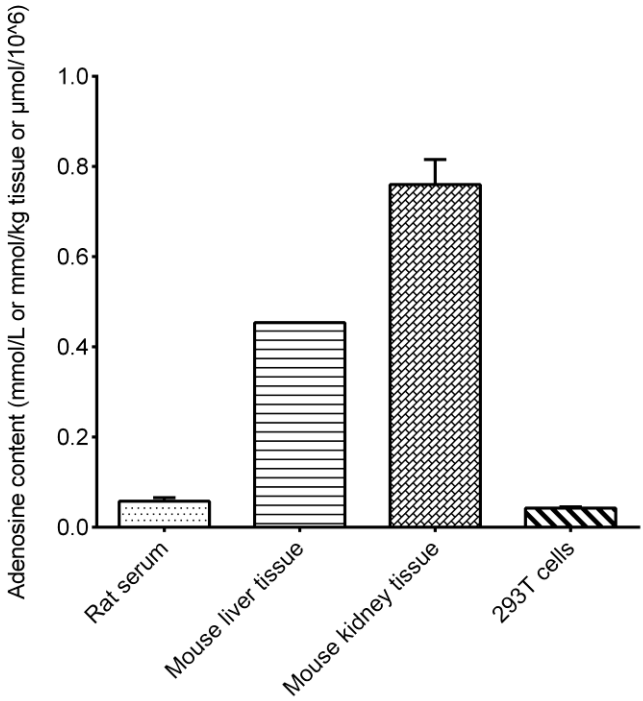
附录2 实例分析

例如大鼠血清样本(数据仅供参考):

取40 μL大鼠血清样本滤出液加入到酶标板孔中，按操作表操作，结果如下：标准曲线：y = 0.3233 x - 0.0033，测定孔A_1值为1.754，A_2值为1.590，$\Delta A_{测定}$ = 1.754 - 1.590 = 0.164；对照孔A_1值为1.725，A_2值为1.576，$\Delta A_{对照}$ = 1.725 - 1.576 = 0.149；$\Delta A_{340} = \Delta A_{测定} - \Delta A_{对照}$ = 0.164 - 0.149 = 0.015，计算结果为：

腺苷含量 (mmol/L) ＝(0.015 + 0.0033) ÷ 0.3233 = 0.057 mmol/L

按说明书操作，测定大鼠血清样本(加样量40 μL)、10%小鼠肝组织(加样量40 μL)、10%小鼠肾组织(加样量40 μL)、293T细胞(1×10^6，加样量40 μL)中的腺苷含量(如下图)：



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。

   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