

(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-K909-M

产品规格: 48T(22 samples)/96T(46 samples)

检测仪器: 酶标仪(340 nm)

Elabscience®天冬酰胺酶 (ASNase) 比色法测试盒

Asparaginase (ASNase) Activity 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)样本中天冬酰胺酶（ASNase）的活性。

检测原理

天冬酰胺酶(Asparaginase, ASNase)是一种蛋白质水解酶，最早发现于豚鼠，在人体中不会自然产生。天冬酰胺酶已经广泛应用于食品领域，通过水解天冬酰胺从而抑制丙烯酰胺致癌物的产生。天冬酰胺酶还因具有独特的抗肿瘤特性被用于治疗各种疾病，如治疗急性淋巴细胞白血病，非霍奇金淋巴瘤、白血病脑膜炎、肺癌和卵巢癌等肿瘤疾病。

本试剂盒的检测原理为：天冬酰胺酶催化底物生成天冬氨酸，天冬氨酸在酶催化作用下被水解。反应消耗 NADH 的量与天冬酰胺酶活性成正比，NADH 在 340 nm 波长处有吸收, 可根据单位时间吸光度值的变化计算天冬酰胺酶活性。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	9 mL×1 瓶	18 mL×1 瓶	-20℃避光保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	辅酶 (Coenzyme)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃避光保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃避光保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	底物 (Substrate)	0.1 mL×1 支	0.2 mL×1 支	-20℃避光保存 6 个月
	紫外酶标板	96 孔×1 块		无要求
	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(340 nm)、恒温箱

试剂：PBS(0.01 M, pH 7.4)

试剂准备

① 检测前，所有试剂需平衡至室温（25℃）待用。

② 试剂二工作液的配制：

取一支试剂二粉剂用220 μ L双蒸水溶解得到试剂二工作液，未用完的试剂二工作液可-20℃避光保存一周。

③ 试剂三工作液的配制：

取一支试剂三粉剂用220 μ L双蒸水溶解得到试剂三工作液，未用完的试剂三工作液可-20℃避光保存一周。

④ 工作液的配制：

将试剂一：试剂二工作液：试剂三工作液=75：2：2体积比混匀，得到工作液。按需配制，2 h内有效。

⑤ 试剂四工作液的配制

将试剂四：双蒸水按2：23体积比混匀，未用完的试剂四工作液可-20℃避光保存一个月。

样本准备

① 样本处理

血清(浆)样本：直接检测。

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：1.27-182.52 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
豚鼠血清	2-15	豚鼠血浆	2-15

注：稀释液为PBS(0.01 M，pH 7.4)。

操作步骤

- ① 对照空白孔：取 40 μL 双蒸水加入相应的酶标孔中；
对照孔/测定空白孔：取 20 μL 双蒸水加入相应的酶标孔中。
测定孔：取 20 μL 试剂四工作液加入相应的酶标孔中；
- ② 向步骤①中的测定空白孔中加入 20 μL 试剂四工作液。
向步骤①中的对照孔和测定孔中加入 20 μL 样本。
- ③ 向各孔中加入 150 μL 工作液。
- ④ 酶标仪 340 nm 处检测各孔 OD 值 A₁，37°C 孵育 10 min 后，检测 OD 值 A₂。

注：建议使用动力学检测，或者每分钟记录一次 OD 值，共记录 10 min，观察测定孔 10 min 内的 OD 值变化是否为匀速下降，若不是匀速下降则需要调整样本浓度。

操作表

	对照空白孔	对照孔	测定空白孔	测定孔
双蒸水(μL)	40	20	20	--
试剂四工作液(μL)	--	--	20	20
样本(μL)	--	20	--	20
工作液(μL)	150	150	150	150
酶标仪 340 nm 处检测各孔 OD 值 A ₁ ，37°C 孵育 10 min 后，检测 OD 值 A ₂ 。				

注：建议使用动力学检测，或者每分钟记录一次 OD 值，共记录 10 min，观察测定孔 10 min 内的 OD 值变化是否为匀速下降，若不是匀速下降则需要调整样本浓度。

结果计算

血清（血浆）样本中天冬酰胺酶(ASNase)酶活计算公式：

定义：37℃ 条件下，每升血清（浆）每分钟催化底物消耗 1 μmol NADH 所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{天冬酰胺酶活力 (U/L)} = \frac{(\Delta A_{\text{测}} - \Delta A_{\text{测空}}) - (\Delta A_{\text{对}} - \Delta A_{\text{对空}})}{\varepsilon \times d} \times \frac{V_1}{V_2} \div T \times f \times 1000$$

注解：

$\Delta A_{\text{对}}$ ：对照孔变化吸光度值， $A_1 - A_2$

$\Delta A_{\text{对空}}$ ：测定空白孔变化吸光度值， $A_1 - A_2$

$\Delta A_{\text{测}}$ ：测定孔变化吸光度值， $A_1 - A_2$

$\Delta A_{\text{测空}}$ ：测定空白孔变化吸光度值， $A_1 - A_2$

ε ：摩尔消光系数，6.22 L/mmol/cm

d ：比色光径，0.6 cm

V_1 ：检测反应总体积，190 μL

V_2 ：样本加入体积，20 μL

T ：反应时间，10 min

f ：样本加入检测体系前的稀释倍数

1000：单位换算，1 mmol = 1000 μmol

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	1.27-182.52 U/L	批间差	7.1-8.2%
灵敏度	1.27 U/L	批内差	2.2-4.7%
稀释回收率	97-100%		

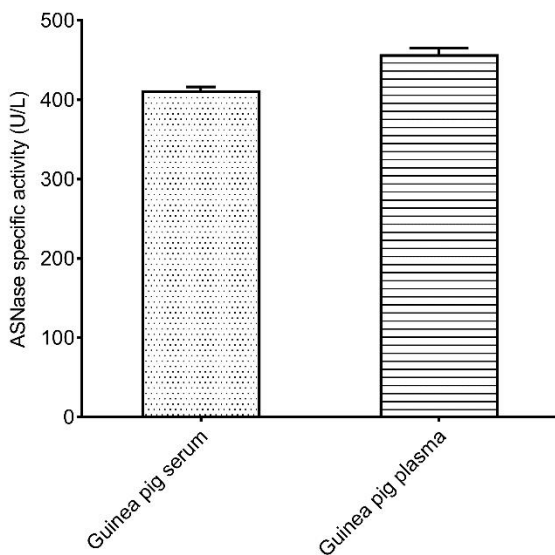
附录2 实例分析

例如检测豚鼠血浆(数据仅供参考):

取 20 μL 稀释 6 倍的豚鼠血浆, 按操作表操作, 结果如下: 测定孔初始吸光度值 A_1 为 1.583, 反应 10 min 后测得吸光度值 A_2 为 1.262, $\Delta A_{\text{测}} = 1.583 - 1.262 = 0.321$ 。测定空白孔初始吸光度值 A_1 为 1.627, 反应 10 min 后测得吸光度值 A_2 为 1.605, $\Delta A_{\text{测空}} = 1.627 - 1.605 = 0.022$ 。对照孔初始吸光度值 A_1 为 1.674, 反应 10 min 后测得吸光度值 A_2 为 1.649, $\Delta A_{\text{对}} = 1.674 - 1.649 = 0.025$ 。对照空白孔初始吸光度值 A_1 为 1.622, 反应 10 min 后测得吸光度值 A_2 为 1.600, $\Delta A_{\text{对空}} = 1.622 - 1.600 = 0.022$ 。

$$\text{天冬酰胺酶活性(U/L)} = ((0.321 - 0.022) - (0.025 - 0.022)) \div (6.22 \times 0.6) \times (190 \div 20) \div 10 \times 6 \\ \times 1000 = 452.09 \text{ U/L}$$

按说明书操作, 测定豚鼠血清(稀释3倍, 加样量20 μL)、豚鼠血浆(稀释6倍, 加样量20 μL)中天冬酰胺酶活性(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本 OD 值未能匀速下降	样本中天冬酰胺酶活性太高	稀释样本或增加样本浓度

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用量，预留充足的样本。

