



天冬酰胺酶活性检测试剂盒 Asparaginase activity Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK382V

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK382-A	60 mL×1 瓶	4℃保存;
AK382-B	20 mL×1 瓶	4℃保存;
AK382-C	30 mL×1 瓶	常温保存;
AK382-D	2 mL×1 瓶	常温保存;
AK382-E	2 mL×1 瓶	常温避光保存; 如出现沉淀, 静置后取上清使用;
AK382-标准品 (1mg/ml)	1mL×1 瓶	4℃保存。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 天冬酰胺酶 (L-asparaginase, L-ASNase, EC 3.5.1.1), 也叫 (天) 门冬酰胺酶, 是一种脱酰胺水解酶, 广泛分布于细菌、真菌、动植物中。由于其具有独特的抗肿瘤特性, 使得 L-ASNase 已成为广泛用于治疗儿童急性淋巴细胞白血病的临床药物之一。此外, 它还有助于治疗其他血液或非血液疾病, 如急性骨髓性白血病、淋巴肉瘤和胰腺癌。同时在食品工业中对丙烯酰胺的抑制能力也使其成为一种重要的工业酶。

原理: 天冬酰胺酶催化 L-天冬酰胺水解成 L-天冬氨酸和氨, 利用奈氏试剂检测氨增加的速率, 即可计算其酶活性。

自备用品:

台式离心机、可见分光光度计、水浴锅、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): AK382-A 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL AK382-A), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 组织: 按照组织质量 (g): AK382-A 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL AK382-A), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
3. 血清 (浆) 等液体样品: 直接测定。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 420nm, 蒸馏水调零。
2. 标准品准备: 临用前用蒸馏水将标准品稀释至 5、4、3、2、1、0.5、0 $\mu\text{g/mL}$ 。
3. 样品测定 (在 EP 中加入下列试剂)

试剂名称 (uL)	测定管 (uL)	对照管 (uL)	标准管 (uL)
样本	25		
蒸馏水		25	
AK382-A	100	100	
AK382-B	400	400	
混匀, 37℃水浴 1 小时			

AK382-C	525	525	
混匀，8000 g，25℃离心 10 min；取上清液，按下表加入下列试剂			
上清液	950	950	
标准液			950
AK382-D	20	20	20
AK382-E	30	30	30
混匀，室温静置 10min，420nm 处读取吸光值 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$			

注：对照管和标准曲线各只要做 1-2 次。

AS 酶活性计算：

1. 标准条件的建立：以浓度 (x) 为横坐标，标准品吸光度 (y) 为纵坐标建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA ($\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$) 带入公式中计算样本浓度 x ($\mu\text{g/mL}$)。

2. 血清 (浆) AS 活性计算：

单位定义：每 mL 血清 (浆) 每小时产生 $1\mu\text{g}$ 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase 活力 (U/mL)} = x \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 21x$$

3. 组织、细菌或细胞中 AS 活性计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白每小时产生 $1\mu\text{g}$ 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase 活力 (U/mg prot)} = x \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 21x \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每小时产生 $1\mu\text{g}$ 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase 活力 (U/g 鲜重)} = x \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 21x \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每小时产生 $1\mu\text{g}$ 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase 活力 (U/10}^4 \text{ cell)} = x \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.042x$$

注：T：反应时间，1h；V 反总：反应体系总体积：0.525mL；V 样：加入反应体系中样本体积，0.025mL；V 样总：提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))