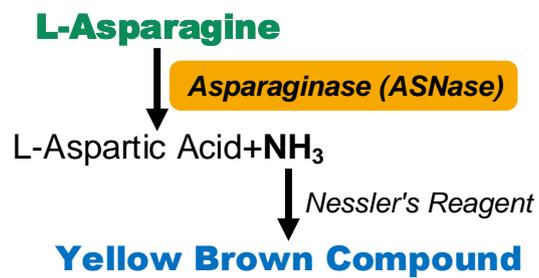




天冬酰胺酶 (ASNase) 活性检测试剂盒
Asparaginase (ASNase) Activity Assay Kit



天冬酰胺酶 (ASNase) 活性检测试剂盒

Asparaginase (ASNase) Activity Assay Kit

一、产品描述

天冬酰胺酶是一种能够催化 L-天冬酰胺水解生成 L-天冬氨酸和氨的酶，是天冬酰胺代谢途径中的关键步骤，对于维持细胞内氮代谢平衡和氨基酸代谢至关重要，在氮代谢和蛋白质合成过程中发挥着重要作用。

天冬酰胺酶可催化 L-天冬酰胺水解生成 L-天冬氨酸和氨，氨进一步与奈氏试剂反应生成棕黄色化合物，产物在 420 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征天冬酰胺酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	液体 60 mL×2 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C 保存	使用前每瓶加入 25 mL 蒸馏水充分溶解 (使用前配制，配制后 4°C 可保存 1 周)
试剂三	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂五	液体 3 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂六	液体 3 mL×1 瓶	4°C 保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量 (g)：试剂一体积 (mL) 为 1：(5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量(10^4 个)：试剂一体积(mL) 为 (500-1000) :1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接测定或适当稀释后再进行测定，若样本浑浊需离心后取上清测定。

2. 测定步骤

- ① 分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 420 nm，蒸馏水调零。
- ② 在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
粗酶液	25	-
蒸馏水	-	25
试剂一	100	100
试剂二	400	400
充分混匀，37°C 准确反应 1 h		
试剂三	525	525
充分混匀		
8000 g 常温离心 10 min，取上清液		
在 96 孔板中依次加入下列试剂：		
上清液	130	130
试剂四	30	30
试剂五	20	20
试剂六	20	20
充分混匀，室温静置 15 min		

吸光值测定：测定 420 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照；计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：对照组只需测定 1-2 次。

3. 天冬酰胺酶 (ASNase) 活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式 ($y = 0.002x + 0.0032$, $R^2 = 0.9991$)

- ① 按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase (U/mg prot)} = \frac{(\Delta A - 0.0032) \times V_{\text{反总}}}{0.002 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{350 \times (\Delta A - 0.0032)}{\text{Cpr}}$$

- ② 按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase (U/g)} = \frac{(\Delta A - 0.0032) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.002 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{350 \times (\Delta A - 0.0032)}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{(\Delta A - 0.0032) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.002 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{350 \times (\Delta A - 0.0032)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase (U/mL)} = \frac{(\Delta A - 0.0032) \times V_{\text{反总}}}{0.002 \times T \times V_{\text{样}}} = 350 \times (\Delta A - 0.0032)$$

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式 ($y=0.004x+0.0032$, $R^2=0.9991$)

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase (U/mg prot)} = \frac{(\Delta A - 0.0032) \times V_{\text{反总}}}{0.004 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{175 \times (\Delta A - 0.0032)}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase (U/g)} = \frac{(\Delta A - 0.0032) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.004 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{175 \times (\Delta A - 0.0032)}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{(\Delta A - 0.0032) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.004 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{175 \times (\Delta A - 0.0032)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{ASNase (U/mL)} = \frac{(\Delta A - 0.0032) \times V_{\text{反总}}}{0.004 \times T \times V_{\text{样}}} = 175 \times (\Delta A - 0.0032)$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.025 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，1.05 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，60 min。

四、注意事项

为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

