天净沙系列

CAT#:EC4.6.1.1

低温运输和保存

腺苷酸环化酶活性测定试剂盒（比色法）

Adenylate Cyclase Assay Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品用于测定腺苷酸环化酶（Adenylate Cyclase，AC，EC4.6.1.1，CAS 137061-48-4）活性，其原理是 AC 催化 ATP 生成 cAMP。cAMP 在特定显色剂作用下，可以产生在 660 nm 有光吸收的物质，因此可以通过检测 660 nm 处吸光值的增加，而测定 AC 的活性。本产品有如下特点：

1. 即开即用，使用便捷，用户不需要优化条件，只需准备待测样本。
2. 线性范围在 0.25 U-0.71 U 之间。
3. 本试剂盒 1 个酶活性单位的定义是在 37℃ pH 7.4 的条件下，每分钟能催化 1 μmol 底物转化所需的酶量。由于 1 个 ATP 分子的经 AC 催化将产生 1 个 cAMP 分子，故 1 个酶活性单位相当于在 37℃ pH 7.4 的条件下每分钟催化产生 1 μmol cAMP 产生所需的酶量。
4. 本产品足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 400 次 250 μL 体系的 96 孔板检测。
5. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品使用塑料袋包装

成份	编号	规格	包装
AC 活性测定底物干粉	EC4.6.1.1s	100 T	60 mL 本色瓶
AC 活性测定显色液成分 1	EC4.6.1.1c1	50 mL	50 mL 棕色瓶
AC 活性测定显色液成分 2 干粉	EC4.6.1.1c2	100 T	50 mL 棕色瓶
AC 活性测定反应液	EC4.6.1.1r	80 mL	100 mL 本色瓶
DTT 干粉	CAS:3483-12-3	77 mg	1.5 mL 本色管
cAMP 干粉	CAS:60-92-4	100 T	50 mL 棕色管
使用手册	EC4.6.1.1sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，2-8℃保存，有效期一年。

自备物品

待测样本、超纯水、样本缓冲液（如果不详，可用柠檬酸盐缓冲液）、分光光度计，1 mL 比色皿

使用方法

一、首次使用本试剂盒时配制下列溶液

1. 配制 AC 活性测定底物液：将 40 mL AC 活性测定反应液加入到装有 AC 活性测定底物干粉的瓶中，颠倒摇晃 20 次溶解，得 AC 活性测定底物液。
2. 配制 AC 活性测定显色液成分 2：将 40 mL AC 活性测定反应液加入到装有 AC 活性测定显色液成分 2 干粉的瓶中，颠倒摇晃 20 次溶解，得 AC

活性测定显色液成分 2。

3. 在装有 cAMP 干粉的管中加入 50 mL 自备超纯水，得到 10 mM cAMP 溶液。

4. 在装有 DTT 干粉的管中加入 1 mL 自备超纯水，颠倒 20 次混匀后加 20 μL 到 AC 活性测定显色液成分 1 中，加 500 μL 到 AC 活性测定反应液中，轻柔颠倒 20 次混匀后待用。没用完时上述溶液均存-20℃。

二、待测样本的制备

5. 用自选方式制备待测样本，样本溶于水或柠檬酸盐缓冲液中，缓冲液 pH 值控制为 7.4。注意：AC 活性受钙离子影响，因此样本中应避免引入钙离子，又由于本试剂盒测定的是 cAMP，故样本中也不得有 cAMP 的成份。

二、标准曲线梯度稀释液的制备

6. 标准曲线只需做一次，计算得到回归方程即可，下面以 5 个稀释度的标准曲线为例。

7. 标记 1-5 个 1.5 mL 离心管。

8. 分别向 1-5 号管中加入 1、0.8、0.6、0.4、0.2 mL 的 10 mM cAMP 溶液，用超纯水补体积至 1 mL，得 10、8、6、4、2 mM 的 cAMP 梯度稀释液。

三、用光径 1 cm 的比色皿测定光吸收

9. 标记 N+6 个 1.5 mL 的塑料离心管，其中 N 个用于待测样品，1 个用于阴性对照，5 个用于标曲。

10. 按下表加入各成分：

成分	N 个样本管	阴性对照	5 个标曲管
超纯水	80 μL	100 μL	不加
样本酶液	20 μL	不加	不加
各梯度的 cAMP 溶液	不加	不加	各 100 μL
AC 活性测定底物液	400 μL	400 μL	各 400 μL
混合均匀 37℃孵育 30 min，沸水浴灭活 5 min			
AC 活性测定显色液成分 1	200 μL	200 μL	各 200 μL
AC 活性测定显色液成分 2	200 μL	200 μL	各 200 μL
混合均匀沸水浴 5 min			

11. 冷却到室温后迅速用分光光度计在660 nm测定OD,测前用蒸馏水调零。

	12. 得到的 OD 分别减去阴性对照的 OD 即得 N 个样本的 OD 和 5 个标准曲线样本的 OD。 **四、数据分析** 13. 以 cAMP 浓度为横轴，以 OD660 为纵轴，以 1-5 号 cAMP 标准曲线样本的数据用 excel 绘制标准曲线并得到计算公式。 14. 根据计算公式，用 N 个样本的 OD660 数据计算出其所对应的 cAMP 浓度。根据 AC 活性的定义（每分钟降解纤维素后形成 1 μmol cAMP 所需要的酶量为 1 个单位）计算出酶的活性。
关联产品	腺苷酸环化酶电泳胶原位显示试剂盒

20250729ztl