天净沙系列

CAT#:EC4.3.1.1

低温运输，-20℃保存

天净沙

天冬氨酸氨裂解酶活性测定试剂盒

Aspartate Ammonia-Lyase Assay Kit

使用手册 V1.0

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

本产品用于测定天冬氨酸氨裂解酶(Aspartate Ammonia-Lyase，EC4.3.1.1)活性。其原理是天冬氨酸氨裂解酶催化 L-天冬氨酸分解为富马酸和铵根离子，富马酸在 240 nm 处有特征光吸收，故通过监测 240 nm 吸光度随时间升高的量即可计算酶活性。本产品具有如下特点：

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. 最低检测限为 0.52 U，线性范围在 3.33 U-16.67 U 之间。
3. 由于 1 个 L-天冬氨酸分子的转化将产生 1 个富马酸分子，故本试剂盒 1 个酶活性单位相当于在 30℃ pH 8.5 的条件下每分钟催化 1 nmol 富马酸产生所需的酶量。
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

本产品采用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
天冬氨酸氨裂解酶 活性测定反应液	EC4.3.1.1r	30 mL	30 mL 本色瓶
天冬氨酸氨裂解酶 活性测定底物液	EC4.3.1.1s	10 mL	10 mL 本色瓶
天冬氨酸氨裂解酶 活性测定终止液	EC4.3.1.1t	90 mL	125 mL 本色瓶
10 mM 富马酸溶液	CAS:110-17-8A	1.5 mL	1.5 mL 本色管
使用手册	EC4.3.1.1sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

待测样品，缓冲液，超纯水，蛋白浓度测定试剂盒，比色皿及与之匹配的分光光度计，96 孔板及与之匹配的分光光度计。

使用方法

一、制备待测样本

1. 用自选方式制备待测样本，样本溶于缓冲液中，缓冲液 pH 值控制为 8.5。注意：由于 Cu2+，Zn2+，Fe3+等金属离子会严重影响天冬氨酸氨裂解酶活性，故样本中不得含有这些物质。同时，由于本试剂盒测定的是富马酸，故样本中也不得有富马酸成分。
2. 预留 10 mL 最后溶解样本的样本溶解液，作为后续测光吸收时的阴性对照。
3. 用自备试剂测定待测样本的蛋白浓度，以备后续计算比活时使用。

二、标准曲线梯度稀释液的制备

4. 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。

5. 标记 1-5 个 1.5 mL 离心管。

6. 分别向 1-5 号管中加入 250、200、150、100、50 μL 的 10 mM 富马酸溶液，用天冬氨酸氨裂解酶活性测定反应液补体积至 0.5 mL，得 5、4、3、2、1 mM 梯度的富马酸溶液。

三、1 mL 体系 1 cm 光径比色皿测定

7. 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。

8. 按下表分别加入各成份：

成分（μL）	N 个样本管	阴性对照	5 个标曲管
天冬氨酸氨裂解酶活性测定底物液	90	不加	不加
第 2 步的样本溶解液	不加	10	不加
N 个待测样本酶液	10	不加	不加
30℃保温 30 分钟			
各梯度的富马酸溶液	不加	不加	100
天冬氨酸氨裂解酶活性测定终止液	900	900	900

9. 混合均匀后迅速用分光光度计在 240 nm 测定 OD，测前用蒸馏水调零。

四、数据处理

10. 计算真实 OD 值：每个样本测得的 OD 值减去阴性对照的 OD 值即为每个样本的真实 OD 值。共 N+5 个读数。

11. 制备标准曲线：以富马酸溶液的浓度为横轴，以其真实 OD 值为纵轴，绘制标准曲线。

12. 根据计算公式，用 N 个样本的真实 OD 值数据计算出其所对应的富马酸浓度。

13. 根据天冬氨酸氨裂解酶活性的定义(30℃ pH 8.5 的条件下每分钟催化 1 nmol 富马酸产生所需的酶量为一个单位）计算出酶的活性。

四、96 孔板检测

14. 操作同上，只是在设置反应时，各成份的用量降低 75%，只用 25%，计算时体积不是 1 mL，而是 0.25 mL。

关联产品

Skygen 苹果酸脱氢酶活性测定试剂盒