

CheKine™ 天冬酰胺合成酶 (AS) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB3046

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清 (浆)
	保质期: 4°C, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

天冬酰胺合成酶 (Asparagine synthetase, AS) 是广泛存在于生物体内的一类氨基转移酶, 催化谷氨酰胺的氨基向天冬氨酸转移。当植物处于氨毒时天冬酰胺的形成是一种解毒反应。

本试剂盒检测原理是 AS 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。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	70 mL	70 mL×2	4°C
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×2 vials	4°C, 避光保存
Reagent III	34 mL	68 mL	RT, 避光保存
Reagent IV	2.5 mL	5 mL	RT
Reagent V	1.5 mL	3 mL	RT
Reagent VI	1.5 mL	3 mL	RT, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 420 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水、PBS	试剂配制/样本清洗用
其他	匀浆器（组织样本）、水浴锅、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本公司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃ 保存
Working Reagent II	临用前配制；每瓶加入 25 mL 去离子水，充分溶解	现配现用，配好的 Working Reagent II 当天用完
Reagent III	即用型	室温避光保存；有刺激性气味，操作时建议在通风橱进行实验
Reagent IV	即用型	室温保存
Reagent V	即用型	室温保存
Reagent VI	即用型	室温避光保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把完整细胞或者分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从-80℃拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。

- 动植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Reagent I，冰浴匀浆，8000 g，4℃ 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- 细胞或细菌：收集 5×10⁶ 个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清。加入

1 mL Reagent I，冰浴超声波破碎细菌或细胞 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 8000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

- 血清（浆）：直接测定。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 420 nm。
2. 检测体系配制：空白管只需做 1-2 次。在 1.5 mL 离心管中按照如下方式操作：

试剂	测定管 (μL)	空白管 (μL)
样本	25	0
去离子水	0	25
Reagent I	100	100
Working Reagent II	400	400
混匀，37℃孵育 1 h		
Reagent III	525	525
混匀，8000 g，25℃离心 10 min；取上清液，在 96 孔板中进行以下操作：		
上清液	130	130
Reagent IV	30	30
Reagent V	20	20
Reagent VI	20	20

3. 吸光度检测：充分混匀，室温（25℃）静置 15 min，测定 420 nm 处吸光值，分别记录为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 标准曲线绘制

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.5196x - 0.0030$ ， $R^2 = 0.9983$ ；y 为标准品浓度（μmol/mL），x 为 ΔA 吸光值。

3. 样本 AS 活性计算

- 按样本质量计算

酶活单位定义：每克样本每分钟催化天冬酰胺生成 1 nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$AS (U/g) = y \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 1000 = y \times 700 \div W$$

- 按细胞或细菌数量计算

酶活单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化天冬酰胺生成 1 nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$AS (U/10^4) = y \times V_{\text{反总}} \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 1000 = y \times 700 \div N$$

● 按液体体积计算

酶活单位定义：每 mL 液体每分钟催化天冬酰胺生成 1 nmol 氨为一个酶活力单位。

$$AS\ (U/mL)=y\times V_{反总}\div V_{样}\div T\times 1000=y\times 700$$

● 按蛋白浓度计算

酶活单位定义：每毫克蛋白每分钟催化天冬酰胺生成 1 nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$AS\ (U/mg\ prot)=y\times V_{反总}\div (V_{样}\times Cpr)\div T\times 1000=y\times 700\div Cpr$$

$V_{反总}$ ：反应体系总体积，1.05 mL； $V_{样}$ ：加入的样本体积，0.025 mL； $V_{样总}$ ：加入 Reagent I 体积，1 mL； Cpr ：样本蛋白浓度，mg/mL； T ：反应时间，60 min； N ：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 1×10^4 ， $N=500$ ）； W ：样本质量，g；1000：换算系数，1 μ mol=1000 nmol。

07 结果展示

示例-1：取 0.13 g 兔肝，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A=A_{测定}-A_{空白}=0.228-0.139=0.089$ ，代入标准曲线，计算 $y=0.043$ 。按样本质量计算得： $AS\ (U/g)=y\times 700\div W=231.538\ U/g$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 ΔA 过高或者过低怎么办？

如果 ΔA 小于 0.01 可适当加大样本量，如果 ΔA 大于 0.6，样本可用 Reagent I 进一步稀释，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

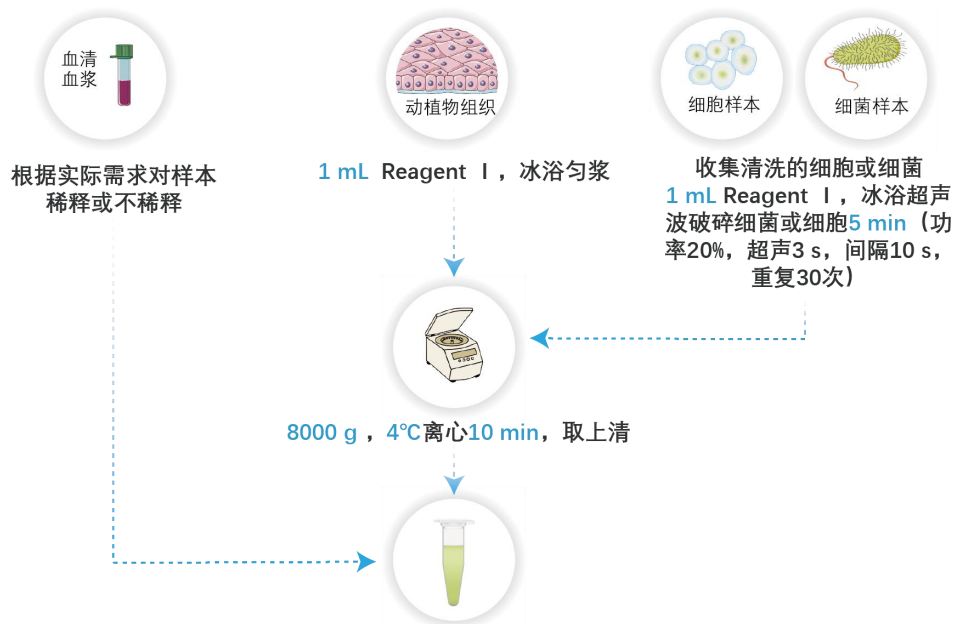
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB4010	CheKine™ 土壤硝酸还原酶（S-NR）活性检测试剂盒（微量法）
KTB3041	CheKine™ 谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒（微量法）
KTB3050	CheKine™ 水土中亚硝酸盐含量检测试剂盒（微量法）
KTB3051	CheKine™ 食品中亚硝酸盐含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 天冬酰胺合成酶 (AS) 检测流程示意图

(Abbking 货号：KTB3046)

样本处理



体系配置



数据检测

