

氨基酸 (AA) 含量检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1044

产品规格: 100管/96样

产品说明:

动物肝脏、肾脏是氨基酸代谢的主要器官, 故尿中氨基酸的变化能反应肝、肾的生理状态。另外, 氨基酸还能反应灼伤、伤寒等方面情况。植物体内氨基酸含量对研究植物在不同条件下及不同生长发育时期氮代谢变化、植物对氮素的吸收、运输、同化及营养状况等有重要意义。

氨基酸的 α -氨基可与水合茚三酮反应, 产生蓝紫色化合物, 在570nm有特征吸收峰; 通过测定570nm吸光度, 来计算氨基酸含量。

注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容:

试剂一: 液体×1瓶, 4℃保存。

试剂二: 液体×1瓶, 4℃保存。

试剂三: 粉剂×1瓶, 4℃, 避光保存。

试剂四: 粉剂×5管, 4℃, 避光保存。

标准品: 粉剂×1瓶, 4℃, 避光保存。

试剂三临用前加入667 μ l无水乙醇, 盖紧后充分混匀, 再加入9.333ml蒸馏水混匀, 避光保存。

试剂四临用前加1ml蒸馏水, 充分溶解。

标准品临用前加10ml蒸馏水, 充分溶解。1 μ mol/mL标准液, 4℃避光保存。

所需的仪器和用品:

台式离心机、水浴锅、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵、无水乙醇、冰和蒸馏水。

样品中AA提取:

1. 按照组织质量 (g): 试剂一体积 (mL) 为1: 5~10的比例 (建议称取约0.1g组织, 加入1mL试剂一) 进行室温匀浆, 然后转移到1.5ml EP管中, 盖紧后 (防止水分散失) 置于沸水浴提取15min; 自来水冷却后, 8000g, 4℃离心10min, 上清液置冰上待测。
2. 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): 试剂一体积 (mL) 为500~1000: 1的比例 (建议500万细菌或细胞加入1mL试剂一), 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。
3. 血清等液体: 直接检测。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热30min, 调节波长到570nm, 蒸馏水调零。
2. 空白管: 取EP管, 加入10 μ l蒸馏水, 100 μ l试剂二, 100 μ l试剂三和10 μ l试剂四, 混匀后盖紧瓶盖 (防止水分散失), 置于沸水浴中保温15min, 冷却后反复颠倒EP管数次, 于570nm测定吸光值, 记为A空白管。显色后务必在30min内测完。
3. 标准管: 取EP管, 加入10 μ l标准品, 100 μ l试剂二, 100 μ l试剂三和10 μ l试剂四, 混匀后盖紧瓶盖 (防止水分散失), 置于沸水浴中保温15min, 冷却后反复颠倒EP管数次, 于570nm测定吸光值, 记为A标准管。显色后务必在30min内测完。
4. 测定管: 取EP管, 加入10 μ l上清液, 100 μ l试剂二, 100 μ l试剂三和10 μ l试剂四, 混匀后盖紧瓶盖 (防止水分散失), 置于沸水浴中保温15min, 冷却后反复颠倒EP管数次, 于570nm测定吸光值, 记为A测定管。显色



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

后务必在30min内测完。

注意：空白管和标准管只需要测定一次。

氨基酸含量计算公式：

a.使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol} / \text{mg prot}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白})] \div (\text{V样} \times \text{Cpr}) \\ = 1 \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol} / \text{g 鲜重}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白})] \div (\text{V样总} \div \text{V样}) \div \text{W} \\ = 1 \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{W}$$

(3) 按细胞数量计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol} / 10^4 \text{cell}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times (\text{V样总} \div \text{V样} \times \\ \text{细胞数量}) \\ = 1 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{细胞数量}$$

(4) 按照液体体积计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol} / \text{mL}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \div \text{V样} \\ = 1 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})$$

C标准品：标准品浓度，1 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ；V标准品：反应体系中加入标准品体积，0.01ml；W：样品质量，g；V样：反应体系中加入样品提取液体积，0.01ml；V样总：样品提取液总体积，1mL Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL。

b.使用96孔板测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol} / \text{mg prot}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白})] \div (\text{V样} \times \text{Cpr}) \\ = 1 \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol} / \text{g 鲜重}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白})] \times (\text{V样总} \div \text{V样}) \div \text{W} \\ = 1 \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{W}$$

(3) 按细胞数量计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol} / 10^4 \text{cell}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times (\text{V样总} \div \text{V样} \times \\ \text{细胞数量}) \\ = 1 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{细胞数量}$$

(4) 按照液体体积计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol} / \text{mL}) = [\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \div \text{V样} \\ = 1 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})$$

C标准品：标准品浓度，1 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ；V标准品：反应体系中加入标准品体积，0.01ml；W：样品质量，g；V样：反应体系中加入样品提取液体积，0.01mL；V样总：样品提取液总体积，1mL；Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL。

注意事项：

1. 试剂盒中试剂三、试剂四和标准品均需临用前配制，且避光保存，配制好未使用完的4 $^{\circ}\text{C}$ 保存且3天内使用完毕。
2. 为保证实验结果的准确性，需先取1-2个样做预实验，如果测定的吸光值过高（高于2.5），用蒸馏水稀释后再测定。
3. 脯氨酸和羟脯氨酸与茚三酮反应在570nm处无吸收峰，因此，570nm处测定结果不含这两种氨基酸的量。
4. 检出限为100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com