

氨基酸 (AA) 检测试剂盒 (茚三酮比色法)

产品货号: BA1552

产品规格: 100T

产品简介:

氨基酸(Amino acid, AA)是组成蛋白质的基本单位,也是蛋白质的分解产物。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最能反应肝、肾的生理状态,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。另外,氨基酸还能反映灼伤、伤寒等方面情况。

氨基酸(AA)检测试剂盒(茚三酮比色法)(Amino Acid Assay kit)检测原理是在弱酸条件下,氨基酸与茚三酮共热情况下能定量的产生蓝紫色的二酮茚胺(又称Ruhemans紫),其吸收峰在波长570nm处,在一定范围内颜色深浅(即吸光度)与氨基酸浓度成正比,该试剂盒主要用于检测血清、尿液、植物组织、食品、药品等中的总游离氨基酸含量。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	100T	保存条件
试剂(A):氨基酸标准(50 μ g/ml)	1ml	4 $^{\circ}$ C
试剂(B):AA Lysis buffer	250ml	室温
试剂(C):茚三酮显色液	50ml	室温 避光
试剂(D):AA Assay buffer	5ml	室温
试剂(E):维生素C	2支	室温

需自备的仪器和用品:

1. 无氨蒸馏水或去离子水
2. 研钵或匀浆器
3. 离心管或试管
4. 水浴锅或恒温箱
5. 60%乙醇
6. 比色杯、分光光度计

操作步骤: (仅供参考):

1. 准备样品:

- ①植物样品:取新鲜植物组织,清洗干净,擦干,切碎,迅速称取 0.4g,按植物组织: AA Lysis buffer=0.4g: 2.0ml 的比例加入 AA Lysis buffer 匀浆或研磨,用无氨蒸馏水稀释至 40ml,混匀,用滤纸过滤,滤液即为氨基酸粗提液,4 $^{\circ}$ C 保存备用。
- ②血浆、血清和尿液样品:血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定,-20 $^{\circ}$ C 冻存,用于氨基酸的检测。
- ③细胞或组织样品:取恰当细胞或组织裂解液,如有必要用 AA Lysis buffer 进行适当匀浆,1000g 离心 5min,留取上清即为氨基酸粗提液,4 $^{\circ}$ C 保存备用,用于氨基酸的检测。
- ④高浓度样品:如果样品中含有较高浓度的氨基酸,可以使用 AA Lysis buffer 进行恰当的稀释。



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

2. 配制茚三酮工作液: 取适量的茚三酮显色液、AA Assay buffer, 按茚三酮显色液: AA Assay buffer=35: 3 的比例混合, 即为茚三酮工作液, 4℃避光密闭保存, 2 周有效。注意: AA Assay buffer 所含物质浓度较高, 且有刺激性, 如有结晶或沉淀, 应于 40~70℃密闭温育, 使其完全溶解后使用。
3. 配制维生素 C 工作液: 取出 1 支维生素 C, 准确溶解于 30ml 无氨蒸馏水, 混匀, 4℃预冷备用, -20℃保存 1 周有效。该试剂盒提供的维生素 C 及其配制的工作液为过量。
4. 配制系列氨基酸标准溶液: 取出氨基酸标准(50μg/ml)恢复至室温后, 以氨基酸标准(50μg/ml)按下表继续稀释:

加入物(ml)	1	2	3	4	5
氨基酸标准(50μg/ml)	0.008	0.016	0.024	0.032	0.04
无氨蒸馏水	0.992	0.984	0.976	0.968	0.960
含氮量(μg)	0.4	0.8	1.2	1.6	2

5. AA 加样: 按照下表设置空白管、标准管、测定管, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。如果样品中的氨基酸浓度过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定, 样品的检测最好能设置平行管。

加入物(μl)	空白管	标准管	测定管
无氨蒸馏水	0.30	—	—
系列氨基酸标准(1~5 号管)	—	0.30	—
待测样品	—	—	0.30
茚三酮工作液	0.45	0.45	0.45
维生素 C 工作液	0.15	0.15	0.15
混匀, 80℃中加热 20min, 迅速冷却。			

6. AA 测定: 加 60%乙醇 2.1ml, 混匀; 立即以空白调零, 分光光度计(比色杯光径 1cm)测定标准管、测定管 570nm 处吸光度(记为 $A_{标准}$ 、 $A_{测定}$)。

计算:

以系列氨基酸标准(1~5 号管)含氮量为横坐标, 以对应的吸光度为纵坐标, 制作标准曲线, 根据测定管的吸光度进而计算其含氮量。根据如下公式计算具体样品中氨基态氮的含量:

$$\text{植物组织样品 AA}(\mu\text{g/g}) = C \times V_T / (W \times V_S)$$

式中: C = 从标准曲线上查得的氨基态氮含量(μg)

V_T = 样品稀释的总体积(ml) = 40(ml)

W = 样品鲜重(g)

V_S = 测定时加入样品体积(ml) = 0.3(ml)

$$\text{血清、尿液等样品 AA}(\mu\text{g/ml}) = C \times N / V_S$$

式中: C = 从标准曲线上查得的氨基态氮含量(μg)

N = 稀释倍数

V_S = 测定时加入样品体积(ml) = 0.3(ml)

注意事项:

1. 实验材料应尽量新鲜, 如取材后不立即使用, 应存于 4℃。
2. 实验中用水尽量保证不被氨污染, 否则会强烈干扰反应。
3. 如果样品中含有大量蛋白质或多肽也会影响结果的准确性, 应先用蛋白沉淀剂去除而后检测, 一般常用乙酸、磺基水杨酸、三氯乙酸等作为沉淀剂。AA Lysis buffer 有蛋白沉淀剂的功能。
4. 氨基酸与茚三酮显色反应可用沸水浴 15min, 但易褪色; 在 80℃水浴中孵育, 并适当延长反应时间, 可增强显色效果。产生的蓝紫色产物在 1h 内保持稳定, 建议尽快检测。



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

5. 脯氨酸或羟脯氨酸的检测，建议使用脯氨酸(PRO)检测试剂盒(茚三酮比色法)。
6. AA Lysis buffer 和 AA Assay buffer 有腐蚀性和挥发性，应小心操作，同时应密闭保存，防止挥发。
7. 空气中的氧有可能干扰显色反应，尽量隔绝空气。
8. 加入维生素 C 可提高反应的灵敏度，并使颜色稳定，但加入过量，将导致吸光度人为偏大，应严格掌握加入的量。
9. 如果没有分光光度计，也可以使用酶标仪测定，但应考虑酶标仪的最大检测体积。
10. 所测样品的浓度过高时，应用 AA Lysis buffer 稀释样品后重新测定。

有效期：6个月有效。4℃运输，4℃保存。



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