

## 精氨酸（Arg）含量检测试剂盒（微量法）

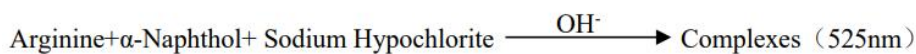
产品货号：BA2154

产品规格：100T/96S

### 产品简介：

精氨酸(Arginine)是人体和动物体内的半必需氨基酸，在机体中参与蛋白质的合成代谢、以及多胺和NO的合成，起着重要的生理作用。精氨酸有降低血压的作用，在体内精氨酸能够分解成为一氧化氮，一氧化氮能松弛血管壁平滑肌，调节血管弹性，对血管内膜有修复作用。精氨酸能够刺激并诱导肾上腺激素分泌，从而降低血糖，减少身体中脂肪酸的生产，能使高血糖患者的血糖降至正常水平。

精氨酸在碱性介质中与甲萘酚和次氯酸钠生成红色生成物，其在525nm处有特征吸收峰，以此计算精氨酸含量。



### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体110mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体17mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1支	2-8℃
试剂二	液体6mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体6mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体6mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加入0.6mL无水乙醇，充分溶解。-20℃可以保存4周。
2. 工作液配制：按照试剂一：试剂二=10μL：90μL（100μL，2T）的比例配制，根据样本量现配现用。
3. 标准品：临用前加入0.918mL蒸馏水，充分溶解，配制成62.5μmol/mL 精氨酸标准溶液。临用前取10μL的62.5μmol/mL精氨酸标准溶液于EP管中，加入790μL蒸馏水充分溶解，配制成0.78125μmol/mL的精氨酸标准溶液。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、涡旋混匀仪、分析天平、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、蒸馏水、无水乙醇和冰。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照质量（g）：提取液一体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g，加入 1mL 提取液一）加入提取液一，冰浴匀浆后于 4℃，12000g 离心 10min，取 0.8mL 上清液，再缓慢加入 0.15mL 提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4℃ 12000g 离心 10min 后取上清待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10<sup>6</sup>个）：提取液一体积（mL）为 5~1：1 的比例（建议 5 百万细胞加入 1mL 提取液一），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；于 4℃，12000g 离心 10min，取 0.8mL 上清液，再缓慢加入 0.15mL 提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4℃ 12000g 离心 10min 后取上清待测。



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

3. 血清（浆）等液体：取 100 $\mu$ L 液体加入 1mL 提取液一，4 $^{\circ}$ C 12000g 离心 10min，取 0.8mL 上清液，再缓慢加入 0.15mL 提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4 $^{\circ}$ C 12000g 离心 10min 后取上清待测。

**注：提取液二需缓慢加入，加入后会产生大量气泡，建议使用 2mL EP 管进行操作。**

## 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 525nm，分光光度计用蒸馏水调零。
2. 在 1.5mL EP 管或 96 孔板中按下表步骤加样：

试剂名称 ( $\mu$ L)	测定管	标准管	空白管
样本	50	-	-
标准品	-	50	-
蒸馏水	-	-	50
工作液	50	50	50
避光、冰浴 20min			
试剂三	50	50	50
震荡 30s			
试剂四	50	50	50
充分混匀后，冰浴反应 2min，微量玻璃比色皿/96 孔板中测定在 525nm 处的吸光度，记作 A 测定，A 标准，A 空白。 $\Delta A$ 测定=A 测定-A 空白， $\Delta A$ 标准=A 标准-A 空白。（标准管和空白管只需做 1-2 次）			

## 三、精氨酸（Arg）含量计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{Arg 含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = C \text{ 标准} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \div (C_{\text{pr}} \times V \text{ 样}) \times F = 0.781 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div C_{\text{pr}} \times F。$$

(2) 按样本质量计算

$$\text{Arg 含量}(\mu\text{mol}/\text{g 质量}) = C \text{ 标准} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times (V \text{ 上清} + V \text{ 提取液二}) \div (W \times V \text{ 上清} \div V \text{ 提取液一}) \times F = 0.928 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W \times F。$$

(3) 按细菌或细胞数目计算

$$\begin{aligned} \text{Arg 含量}(\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) &= C \text{ 标准} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times (V \text{ 上清} + V \text{ 提取液二}) \div (N \div V \text{ 上清} \div V \text{ 提取液一}) \\ &\times F \\ &= 0.928 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div N \times F \end{aligned}$$

(4) 按液体体积计算

$$\text{Arg 含量}(\mu\text{mol}/\text{mL}) = C \text{ 标准} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times (V \text{ 上清} + V \text{ 提取液二}) \div (V \text{ 液体} \times V \text{ 上清} \div (V \text{ 液体} + V \text{ 提取液一})) \times F = 10.205 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times F$$

C 标准：精氨酸标准溶液浓度，0.78125 $\mu$ mol/mL；V 样：反应体系中加入的样本体积，0.05mL；V 上清：提取时上清的体积，0.8mL；V 提取液二：加入提取液二的体积，0.15mL；V 提取液一：加入提取液一的体积，1mL；V 液体：液体样本体积，0.1mL；C<sub>pr</sub>：蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞或细菌数量，以 10<sup>6</sup> 计；F：样本稀释倍数。

### 注意事项：

1. 如果  $\Delta A$  测定大于 1.2，可以用蒸馏水对样本进行稀释；如果  $\Delta A$  测定过小，可以加大样本量。最终计算时同步修改计算公式。
2. 提取液一中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白浓度测定。如需测定蛋白含量，需另取组织。



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