

精氨酸 (Arg) 含量检测试剂盒 (可见分光光度法)

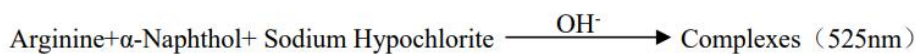
产品货号: BA2153

产品规格: 50T/48S

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60mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体9mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1支	2-8℃
试剂二	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体15mL×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1.5mL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=50μL:450μL(500μL,2T)的比例配制,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、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、1mL玻璃比色皿、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(10⁶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 μ 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. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 525nm，蒸馏水调零。
2. 在 1.5mL EP 管中按下表步骤加样：

试剂名称 (μ L)	测定管	标准管	空白管
样本	250	-	-
标准品	-	250	-
蒸馏水	-	-	250
工作液	250	250	250
避光、冰浴 20min			
试剂三	250	250	250
震荡 30s			
试剂四	250	250	250
充分混匀后，冰浴反应 2min，于比色皿中测定在 525nm 处的吸光度，记作 A 测定，A 标准，A 空白。 ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 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

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

(2) 按样本质量计算

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

(3) 按细菌或细胞数目计算

$$\text{Arg 含量} (\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (N \div V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) \times F$$

$$= 0.928 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times F$$

(4) 按液体体积计算

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

C 标准：精氨酸标准溶液浓度，0.78125 μ mol/mL；V 样：反应体系中加入的样本体积，0.25mL；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；Cpr：蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞或细菌数量，以 10⁶ 计；F：样本稀释倍数。

注意事项：

1. 如果 ΔA 测定大于 0.8，可以用蒸馏水对样本进行稀释；如果 ΔA 测定小于 0.01，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