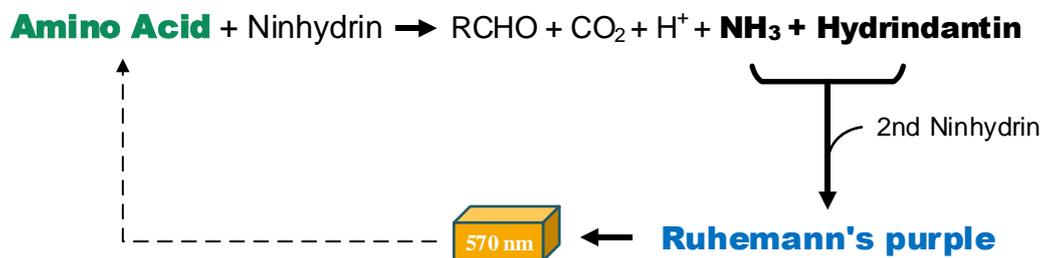




氨基酸 (AA) 含量检测试剂盒
Amino Acid (AA) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



氨基酸 (AA) 含量检测试剂盒

Amino Acid (AA) Content Assay Kit

一、产品描述

氨基酸作为组成蛋白质的基本单元,在生物代谢过程中起着关键作用。动物肝脏、肾脏是氨基酸代谢的主要器官,尿液中氨基酸的变化可以反映体内氨基酸的代谢情况,以及肝脏、肾脏的生理状态;植物体内氨基酸含量对研究植物在不同时期氮代谢的变化、植物根系生理、植物对氮素的吸收、运输、同化及营养状况等具有重要意义。

氨基酸中的 α -氨基在加热条件及弱酸环境下能够与水合茚三酮反应生成蓝紫色化合物,产物在 570 nm 处具有特征吸收峰,通过吸光值变化即可定量检测氨基酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×3 瓶	4°C避光保存	使用前每瓶加入 1 mL 无水乙醇充分溶解 再加入 14 mL 蒸馏水充分混匀 (现用现配,配制后 4°C可保存一周)
试剂三	粉剂×2 瓶	4°C避光保存	使用前每瓶加入 4 mL 蒸馏水充分溶解 (现用现配,配制后 4°C可保存一周)
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 亮氨酸标准品)	4°C避光保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 亮氨酸标准液)
标准稀释液的制备: 将 10 mg/mL 亮氨酸标准液使用蒸馏水稀释至 200、150、100、50、25、12.5 $\mu\text{g/mL}$ 即为标准稀释液。			

需自备试剂: 无水乙醇 ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$, MW = 46.07, CAS: 64-17-5)

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	10000	1000	1000	1000	100	50	25
标准液体积 (μL)	100	200	150	100	500	500	500
蒸馏水体积 (μL)	900	800	850	900	500	500	500
稀释后浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	1000	200	150	100	50	25	12.5

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴、无水乙醇和蒸馏水。

1.氨基酸的提取（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL)为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎细菌或细胞（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），沸水浴提取 15 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，4°C 10000 g 离心 10 min，取上清液即为待测样本。

②组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，室温研磨至匀浆，沸水浴提取 15 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，4°C 10000 g 离心 10 min，取上清液即为待测样本。

③血液、培养液等液体样本：吸取 0.5 mL 液体样本加入 0.5 mL 提取液，沸水浴提取 15 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，4°C 10000 g 离心 10 min，取上清液即为待测样本。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 570 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	50	-	-
标准稀释液	-	50	-
蒸馏水	-	-	50
试剂一	500	500	500
试剂二	500	500	500
试剂三	50	50	50

沸水浴处理 15 min，冰水浴冷却至室温
10000 g 常温离心 5 min，取上清液

吸光值测定（务必在 30 min 内完成测定）：吸取 1 mL 上清液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 570 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 200、150、100、50、25、12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x ($\mu\text{g}/\text{mL}$)。

3. 氨基酸含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{氨基酸含量 } (\mu\text{g/g}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W} = \frac{x}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

$$\text{氨基酸含量 } (\mu\text{g/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{Cpr} \times V_{\text{样总}}} = \frac{x}{\text{Cpr}}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{氨基酸含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{氨基酸含量 } (\mu\text{g/mL}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{液}}} = 2 \times x$$

注释： V样总：样本提取后总体积，1 mL；V液：液体样本提取过程中加入液体样本的体积，0.5 mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

①试剂二和试剂三均需现用现配且避光保存，配制后有效期较短，为便于试验安排，均附赠一瓶作为备用；

②若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用**试剂一**适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当调整样本量和提取液比例后再进行测定，计算时相应调整；

③脯氨酸和羟脯氨酸与茚三酮反应在570 nm处无吸收峰，测定结果不含这两种氨基酸的含量；

④提取过程会使蛋白变性，若使用蛋白浓度计算，需单独使用PBS提取后再测定蛋白浓度；

⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

