



精氨酸 (Arg) 含量检测试剂盒
Arginine (Arg) Content Assay Kit



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



精氨酸 (Arg) 含量检测试剂盒

Arginine (Arg) Content Assay Kit

一、产品描述

精氨酸是人体和动物体内的半必需氨基酸，在机体中可参与蛋白质、氨基酸、DNA 和氮氧化物的合成过程，并且可作为前体物质参与一氧化氮的合成，其含量分析对免疫调节、激素分泌和氮代谢等领域的研究具有重要意义。

精氨酸在碱性介质中能够与甲萘酚和次氯酸钠反应生成红色化合物，产物在 525 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测精氨酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液 A	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 9 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	粉剂×1 支	4°C 保存	使用前加入 1.5 mL 无水乙醇充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 精氨酸标准品)	4°C 保存	使用前加入 957 μL 蒸馏水充分溶解 (即为 60 μmol/mL 精氨酸标准液)
标准应用液的制备 (现用现配): 使用前将 60 μmol/mL 精氨酸标准液使用蒸馏水稀释至 0.6 μmol/mL 即为标准应用液。			

需自备试剂: 无水乙醇 (C₂H₆O, MW=46.07, CAS:64-17-5)

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/培养箱、无水乙醇和蒸馏水。

1. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液 A 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 A）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②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 A 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 A）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：吸取 100 μL 液体样本加入 1 mL 提取液 A，4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

注：提取液 B 加入时会产生大量气泡，应缓慢加入并吹打混匀至无气泡产生，建议使用 2 mL 离心管。

2. 测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 525 nm，蒸馏水调零。

②检测工作液的制备（现用现配）：根据使用量按试剂一：试剂二=1:9 的体积比配制并充分混匀。

③在离心管中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

试剂	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	250	-	-
标准应用液	-	250	-
蒸馏水	-	-	250
检测工作液	250	250	250
充分混匀，冰浴避光反应 20 min			
试剂三	250	250	250
充分振荡混匀 30 s			
试剂四	250	250	250
充分混匀，冰浴反应 2 min			

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 525 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测 1-2 次。

3.精氨酸 (Arg) 含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{精氨酸含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}} = \frac{0.6 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{精氨酸含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提B}}) \times V_{\text{提A}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{上清}}} = \frac{0.713 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{精氨酸含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提B}}) \times V_{\text{提A}}}{\text{Cell} \times \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{上清}}} = \frac{0.713 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\text{Cell} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{精氨酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提B}}) \times (V_{\text{提A}} + V_{\text{液}})}{\Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{上清}} \times V_{\text{液}}} = \frac{7.838 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

注释： C 标：标准应用液浓度，0.6 $\mu\text{mol/mL}$ ；V 上清：提取过程中吸取上清液的体积，0.8 mL；

V 提 A：提取过程中加入提取液 A 的体积，1 mL；V 提 B：提取过程中加入提取液 B 体积，0.15 mL；

Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；Cell：细菌或细胞数量，以万计；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL。

四、注意事项

①提取液 A 中含有蛋白沉淀组分，待测样本不能用于蛋白含量测定；若使用蛋白浓度计算精氨酸含量，则需要另取样本使用 PBS 或生理盐水按照相同步骤制备为待测样本，再进行蛋白浓度测定；

②若 ΔA 测定大于 0.8，建议将待测样本适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.02，建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

③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.

