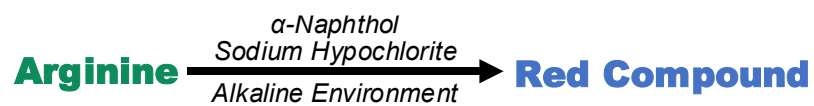




精氨酸 (Arg) 含量检测试剂盒
Arginine (Arg) Content Assay Kit



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 20 种基本氨基酸之一，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，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；同时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产生，能使高血糖患者的血糖降至正常水平，其含量分析对免疫调节、激素分泌和氮代谢等生命科学领域的研究具有重要意义。

精氨酸在碱性介质中能够与甲苯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 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	粉剂×1 支	4°C 避光保存	使用前加入 1.5 mL 无水乙醇充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 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 13 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂四	液体 13 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准品	粉剂×1 支	4°C 保存	使用前加入 960 μL 蒸馏水充分溶解 (即为 60 μmol/mL 精氨酸标准液)
标准稀释液的制备 (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 2.5、1.6、0.8、0.4、0.2、0.1 μmol/mL 即为标准稀释液。			

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

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、无水乙醇和蒸馏水。

1.待测样本的制备（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，取上清液置于冰上待测。

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，取上清液置于冰上待测。

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，取上清液置于冰上待测。

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酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 525 nm。

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标准稀释液的制备（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 2.5、1.6、0.8、0.4、0.2、0.1 μmol/mL 即为标准稀释液。

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	60	10	10	1.6	0.8	0.4	0.2
标准液体积（μL）	100	250	160	500	500	500	500
蒸馏水体积（μL）	500	750	840	500	500	500	500
稀释后浓度（μmol/mL）	10	2.5	1.6	0.8	0.4	0.2	0.1

④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	100	-	-
标准稀释液	-	100	-
蒸馏水	-	-	100
检测工作液	100	100	100
充分混匀，冰浴避光反应 20 min			
试剂三	100	100	100
充分振荡混匀 30 s			
试剂四	100	100	100
充分混匀，冰浴反应 2 min			

注：反应结束后待测液均应持续在冰浴条件下保存等待测定吸光值。

吸光值测定（30 min 内完成测定）：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板中，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：各浓度标准管和空白管只需测 1-2 次。

标准曲线的建立：以 2.5、1.6、0.8、0.4、0.2、0.1 μmol/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 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入公式中得到 x (μmol/mL)。

3.精氨酸 (Arg) 含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{精氨酸含量 (}\mu\text{mol/mg prot)} = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}} \times D}{C_{\text{pr}} \times W \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x \times D}{C_{\text{pr}} \times W}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{精氨酸含量 (}\mu\text{mol/g)} = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{W \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x \times D}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{精氨酸含量 (}\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell)} = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{精氨酸含量} (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提B}}) \times (V_{\text{提A}} + V_{\text{液}})}{V_{\text{上清}} \times V_{\text{液}}} = 13.0625 \times x \times D$$

注释：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；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/g；W：样本质量，g；细菌或细胞数量，以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①若 A 测定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蒸馏水适当稀释后再进行测定；低于最低值建议制备更高浓度的样本后再进行测定，计算时相应修改；

②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 或生理盐水制备蛋白含量测定待测样本，再进行蛋白浓度测定；

③冰浴反应结束后待测液对温度较为敏感，因此待测液均应持续置于冰浴中保存待测，并尽快完成吸光值测定（30 min 内完成测定）；

④准确在规定时间点完成吸光值测定，以确保检测结果的准确性和重复性；若样本较多可分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

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.

Notes:

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

