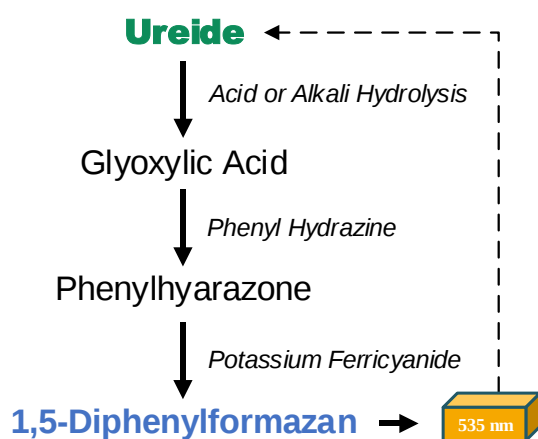




植物中酰胺含量检测试剂盒
Plant Ureide Content Assay Kit



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



植物中酰胺含量检测试剂盒

Plant Ureide Content Assay Kit

一、产品描述

酰胺（尿囊素和尿囊酸）是豆科植物根瘤菌共生固氮中最初输出的氮代谢产物，是氮素贮藏和运输的主要形式，在豆科植物氮代谢中起着重要作用。选育高固氮活性豆科植物品种是提高豆科植物固氮能力的有效途径，酰胺含量可作为植物固氮能力的重要评估指标。

尿囊素在过酸或碱条件下水解产生乙醛酸，乙醛酸能够与苯肼和强酸条件下生成红色络合物，产物在 535 nm 处具有特殊吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测植物中酰胺的含量。

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 2 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 2 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 2 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	液体 4 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂五	粉剂×2 瓶	-20°C避光保存	使用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存一周，避免反复冻融)
试剂六	液体 4 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 尿囊素)	4°C避光保存	使用前加入 632.5 μL 蒸馏水充分溶解 (即为 100 μmol/mL 酰胺标准液)
标准稀释液的制备：使用前将100 μmol/mL酰胺标准液使用蒸馏水稀释至24、12、6、3、1.5、0.75 nmol/mL即为标准稀释液。			

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

浓盐酸（HCl，MW = 36.46，CAS: 7647-01-0）

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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、烘箱、20-40 目筛、恒温水浴/培养箱、无水乙醇和浓盐酸。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

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

1.植物中酰胺的提取（可根据预实验结果适当调整样本量）

①植物样本在 65℃鼓风烘箱中烘干，研磨至粉状后过 20-40 目筛；

②按样本质量 (g)：无水乙醇 (mL)：提取液体积 (mL) = 1: (10-20): (10-20) 的比例（建议称取 0.1 g 烘干样本，依次加入 1 mL 无水乙醇和 1 mL 提取液）处理样本，充分振荡混匀；

③80℃水浴提取 5 min（密封以防止水分散失），4000 rpm 常温离心 15 min，取上清液即为待测样本，置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min，调至波长至 535 nm，蒸馏水调零。

②试验前将浓盐酸与试剂六置于冰水浴中预冷 30 min 以上，置于冰上待用。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	对照管 (μL)	测定管 1 (μL)	测定管 2 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	80	80	80	-	-
标准稀释液	-	-	-	80	-
蒸馏水	-	-	-	-	80
试剂一	10	-	10	10	10
试剂三	-	20	-	-	-
-	-	沸水浴处理 7 min，冷却至室温			
试剂二	10	-	10	10	10
-	-	沸水浴处理 6 min，冷却至室温			
试剂四	20	20	20	20	20
试剂五	20	20	20	20	20
充分混匀，室温静置 6 min，冰水浴冷却至 4℃					
浓盐酸	100	100	100	100	100
试剂六	20	20	20	20	20
充分混匀，室温静置 15 min					

注：对照管不进行沸水浴处理，测定管 1 只需进行第二次沸水浴处理，
沸水浴处理过程中注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 535 nm 处吸光值，记为 A 测定 1、A 测定 2、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定 1 = A 测定 1 - A 对照， ΔA 测定 2 = A 测定 2 - A 对照， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样本均需设一个对照管。

3.植物中酰胺含量计算

3.1 标准曲线的建立

以 24、12、6、3、1.5、0.75 nmol/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 1 和 ΔA 测定 2 带入公式中得到 x_1 和 x_2 (nmol/mL)。

3.2 酰胺含量的计算

$$\text{尿酸含量 (nmol/g)} = \frac{x_1 \times V_{\text{提}}}{W} = \frac{2 \times x_1}{W}$$

$$\text{酰胺含量 (nmol/g)} = \frac{x_2 \times V_{\text{提}}}{W} = \frac{2 \times x_2}{W}$$

注释：V 提：提取后总体积，2 mL；W：样本质量，0.1 g。

四、注意事项

①若 ΔA 测定超出标准线性吸光值范围，建议适当调整样本量或将提取液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

②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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

