

氨基酸（AA）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1089

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.625–40 $\mu\text{mol/mL}$ 灵敏度：0.5 $\mu\text{mol/mL}$

适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞、细胞上清、细菌、尿液

产品简介

动物肝脏、肾脏是氨基酸代谢的主要器官，故尿中氨基酸的变化最能反应肝、肾的生理状态。另外，氨基酸还能反应灼伤、伤寒等方面情况。植物体内氨基酸含量对研究植物在不同条件下及不同生长发育时期氮代谢变化、植物对氮素的吸收、运输、同化及营养状况等有重要意义。本试剂盒提供了一种简单的检测方法，用于检测各种生物样本中氨基酸含量，其原理是氨基酸的 α -氨基可与水合茚三酮反应，产生蓝紫色化合物，在 570nm 处有特征吸收峰；通过测定 570nm 吸光度，来计算氨基酸含量。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
反应缓冲液	5mL	10mL	4℃保存
显色物	1	1	4℃避光保存
标准品（10mg 半胱氨酸）	1	1	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 570nm 处的吸光度）及水浴锅
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
低温离心机
去离子水、乙醇
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

显色物：临用前配制，96T 加入 4mL 95%乙醇充分溶解，48T 加入 2mL 95%乙醇充分溶解，未用完的已溶解的显色物可 4℃避光保存一周。若需长期保存，请分装后-20℃保存，避免反复冻融。

标准品：临用前配制，加 2.066 mL 去离子水，充分溶解得到 40 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品，未用完的已溶解的标准品可 4℃避光保存一周。若需长期保存，请分装后-20℃保存，避免反复冻融。

标准曲线设置：把 40 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品按下表所示，用去离子水进行下一步稀释。

	标准品体积	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)
Std. 1	200 μL of 40 $\mu\text{mol/mL}$	0	40
Std. 2	100 μL of Std. 1 (40 $\mu\text{mol/mL}$)	100	20

产品说明书

Std. 3	100 μ L of Std. 2 (20 μ mol/mL)	100	10
Std. 4	100 μ L of Std. 3 (10 μ mol/mL)	100	5
Std. 5	100 μ L of Std. 4 (5 μ mol/mL)	100	2.5
Std. 6	100 μ L of Std. 5 (2.5 μ mol/mL)	100	1.25
Std. 7	100 μ L of Std. 6 (1.25 μ mol/mL)	100	0.625

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，室温下充分匀浆，转移到 1.5mL EP 管中，盖紧后（防止水分散失）置于沸水浴 15min；自来水冷却后，10,000rpm，室温离心 10min，取上清液待测。

植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液捣碎，室温超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），转移到 1.5mL EP 管中，盖紧后（防止水分散失）置于沸水浴 15min；自来水冷却后，10,000rpm，室温离心 10min，取上清液待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，室温超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），转移到 1.5mL EP 管中，盖紧后（防止水分散失）置于沸水浴 15min；自来水冷却后，10,000rpm，室温离心 10min，取上清液待测。

液体：吸取 0.5mL 液体加入 0.5mL 提取液，盖紧后（防止水分散失）置于沸水浴 15min；自来水冷却后，10,000rpm，室温离心 10min，取上清液，待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 6 个月。

若需测定样本蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 570nm，可见分光光度计去离子水调零。

2. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白管 (μ L)	标准管 (μ L)	测定管 (μ L)
去离子水	10	0	0
不同浓度标准品	0	10	0
样本	0	0	10
显色物	20	20	20
反应缓冲液	50	50	50

3. 混匀后盖紧瓶盖（防止水分散失），置于沸水浴中保温 5min，自来水冷却 10 秒钟后加入 120 μ L 60%乙醇反复颠倒 EP 管数次，每管取出 150 μ L 加入 96 孔板或微量玻璃比色皿对应的孔中，于 570nm 测定吸光值，记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 、 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ （空白管只需做 1 管），显色后务必在 30min 内测完。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量，如果 $A_{\text{测定}}$ 大于 2.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。脯氨酸和羟脯氨酸与茚三酮反应在 570nm 处无吸收峰，因此，570nm 处测定结果不含这两种氨基酸的量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制

以标准液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入标准曲线公式计算出 y (μ mol/mL)。

2. 样本氨基酸含量计算

(1) 按样本质量计算

产品说明书

氨基酸含量($\mu\text{mol/g}$ 质量) $=y \div W \times n$

(2) 按蛋白浓度计算

氨基酸含量($\mu\text{mol/mg prot}$) $=y \div C_{pr} \times n$

(3) 按细菌或细胞数量计算

氨基酸含量($\mu\text{mol}/10^4$ cells) $=y \div \text{细胞数量} \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$

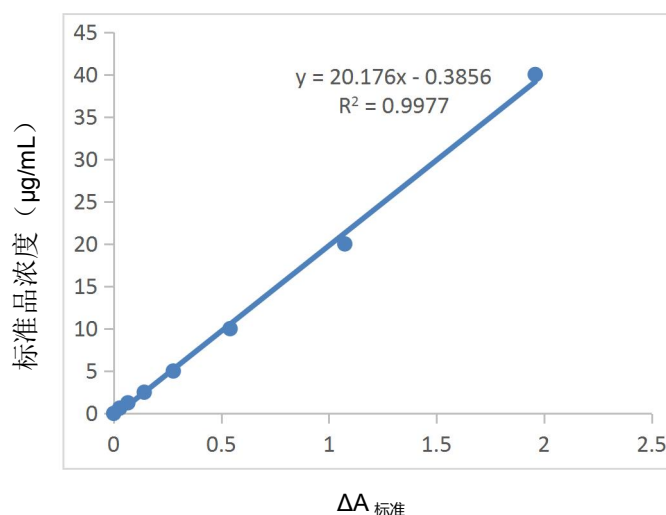
(4) 按液体体积计算

氨基酸含量($\mu\text{mol/mL}$) $=y \times 2 \times n$

W: 样本质量, g; n: 样本的稀释倍数; Cpr: 上清液蛋白质浓度, mg/mL; 500: 细菌或细胞总数, 500 万个;
2: 提取液体时的稀释倍数, $(0.5 \text{ mL} + 0.5 \text{ mL}) / 0.5 \text{ mL} = 2$ 。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考, 实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

- PMK1046 脯氨酸 (PRO) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1084 谷丙转氨酶 (ALT/GPT) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1085 谷草转氨酶 (AST/GOT) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1090 半胱氨酸 (Cys) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1091 谷氨酸 (Glu) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1093 赖氨酸 (LYS) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

