

赖氨酸（LYS）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1093

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.0313-2 μmol/mL 灵敏度：0.0313 μmol/mL

适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞、细胞上清、细菌

产品简介

赖氨酸是人体必需氨基酸之一，能促进人体发育、增强免疫功能，并有提高中枢神经组织功能的作用。赖氨酸为碱性必需氨基酸。由于谷物食品中的赖氨酸含量甚低，且在加工过程中易被破坏而缺乏，故称为第一限制性氨基酸。本试剂盒提供了一种简单的检测方法，可检测各种生物样本中赖氨酸含量，其原理是蛋白质中的赖氨酸具有一个游离的 ε-NH₂，它与茚三酮试剂反应生成蓝紫色物质，在 570nm 有特征吸收峰；通过测定 570nm 吸光度，来计算赖氨酸含量。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	6.25mL	12.5mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1瓶	粉剂×1瓶	4℃避光保存
赖氨酸标准品	粉剂×1支	粉剂×1支	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。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：临用前配制，96T 加入 12.5mL 95%乙醇充分溶解，48T 加入 6.25mL 95%乙醇充分溶解，未用完的已溶解的试剂二可 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。

工作液的配制：按试剂一：已溶解的试剂二=1:1 的比例，根据样本量按需求配制。

赖氨酸标准品：临用前配制，加 1.71mL 去离子水，充分溶解得到 40 μmol/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 μmol/mL 标准品按下表所示，进行下一步稀释。

	标准品体积	提取液体积 (μL)	标准品浓度 (μmol/mL)
Std. 1	20μL of 40 μmol/mL	380	2

产品说明书

Std. 2	200 μL of Std. 1 (2 $\mu\text{mol}/\text{mL}$)	200	1
Std. 3	200 μL of Std. 2 (1 $\mu\text{mol}/\text{mL}$)	200	0.5
Std. 4	200 μL of Std. 3 (0.5 $\mu\text{mol}/\text{mL}$)	200	0.25
Std. 5	200 μL of Std. 4 (0.25 $\mu\text{mol}/\text{mL}$)	200	0.125
Std. 6	200 μL of Std. 5 (0.125 $\mu\text{mol}/\text{mL}$)	200	0.0625
Std. 7	200 μL of Std. 6 (0.0625 $\mu\text{mol}/\text{mL}$)	200	0.0313

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 80°C 水浴提取 20min；冷却后，10,000g，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 80°C 水浴提取 20min；冷却后，10,000g，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 80°C 水浴提取 20min；冷却后，10,000g，室温离心 10min，取上清液待测。

细胞上清或血清（浆）：在 1.5mL EP 管中，吸取 0.5mL 液体加入 0.5mL 提取液，盖紧后（防止水分散失）置于 80°C 水浴提取 20min；冷却后，10,000g，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°C 保存 6 个月。

推荐用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

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 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)
提取液	100	0	0
不同浓度标准品	0	100	0
样本	0	0	100
工作液	200	200	200

混匀，80°C 水浴 30min（盖紧，以防止水分散失），冷却至常温。加入 300 μL 60%乙醇混匀，取 200 μL 至 96 孔板或微量石英比色皿中，于 570nm 测定吸光值，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 、 $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ （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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量，如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.2，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

1. 标准曲线的绘制

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

2. 样本赖氨酸含量计算

(1) 按样本质量计算

赖氨酸含量 ($\mu\text{mol}/\text{g}$ 质量) = $y \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times n = y \div W \times n$

(2) 按蛋白浓度计算

赖氨酸含量 ($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$) = $y \times V_{\text{样本}} \div (Cpr \times V_{\text{样本}}) \times n = y \div Cpr \times n$

产品说明书

(3) 按细菌或细胞数量计算

赖氨酸含量 ($\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}$) = $y \times V_{\text{样本}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = y \div 500 \times n = 0.002y \times n$

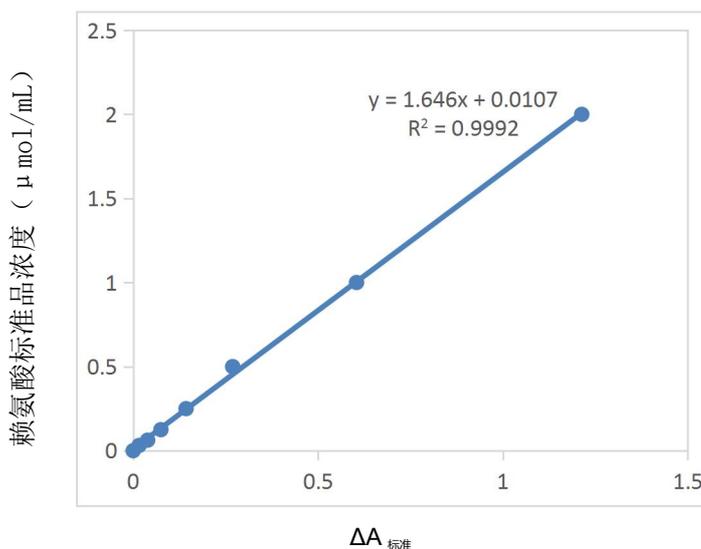
(4) 按液体体积计算

赖氨酸含量 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$) = $y \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样本}} \times 2 \times n = y \times 2 \times n$

$V_{\text{样本}}$: 加入样本体积: 0.1mL; $V_{\text{样总}}$: 提取体系体积, 1mL; W: 样本质量, g; n: 样本进一步稀释的稀释倍数; 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 mL+0.5 mL) / 0.5mL=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)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

