

氨基酸(AA)含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1044

产品规格：100管/96样

产品内容：

试剂一：液体100mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体20mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：粉剂×1瓶，4℃避光保存。临用前加入1.33mL无水乙醇，盖紧后充分混匀，再加入18.67 mL蒸馏水混匀，避光保存。

试剂四：粉剂×1支，4℃避光保存。临用前加2mL蒸馏水，充分溶解。

标准品：粉剂×1支，10mg半胱氨酸，4℃保存。临用前加入8.26mL蒸馏水，得到10μmol/mL的半胱氨酸标准溶液备用。

产品说明：

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。

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570 nm有特征吸收峰；通过测定570nm吸光度，来计算氨基酸含量。

需自备的仪器和用品：

台式离心机、可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、无水乙醇、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样品的提取：

(1) 组织样本：称取约 0.1g 组织，加试剂一 1mL，室温下充分研磨，转移到 1.5mLEP 管中，盖紧后（防止水分散失）置于沸水浴提取 15min；自来水冷却后，10000rpm，4℃离心 10min，取上清液，待测。

(2) 细菌或细胞样本：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一，超声波破碎细菌或细胞（功率 20%，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；10000rpm，4℃离心 10min，取上清液，待测。

二、测定步骤：

1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 570nm，蒸馏水调零。

2、操作表：（在 EP 管中进行）

试剂名称（ μ L）	测定管	标准管	空白管
样本	10	-	-
标准液	-	10	-
蒸馏水	-	-	10
试剂二	100	100	100
试剂三	100	100	100



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂四	10	10	10
混匀后盖紧瓶盖（防止水分散失），置于沸水浴中保温15min，冷却后反复颠倒EP管数次，8000rpm离心5min后取上清，于570nm测定吸光值，分别记为A测定管、A标准管、A空白管，并计算ΔA测定管=A测定管-A空白管，ΔA标准管=A标准管-A空白管，显色后务必在30min内测完。			

三：氨基酸含量计算：

（1）按样本质量计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) = (\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管}) \div (\text{W} \div \text{V样总} \times \text{V样})$$

$$= 10 \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \div \text{W}$$

（2）按蛋白浓度计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol/mg prot}) = (\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管}) \div (\text{Cpr} \times \text{V样})$$

$$= 10 \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管} \div \text{Cpr}$$

（3）按细菌或细胞数量计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = (\text{C标准品} \times \text{V标准品} \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管}) \div (500 \times \text{V样} \div \text{V样总})$$

$$= 0.02 \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管}$$

（4）按液体体积计算

$$\text{氨基酸含量} (\mu\text{mol/mL}) = (\text{C标准品} \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管}) \times 2 = 20 \times \Delta\text{A测定管} \div \Delta\text{A标准管}$$

C标准品：标准品浓度，10μmol/mL；V标准品：反应体系中加入标准品体积，0.01mL；W：样品鲜重，g；V样：反应体系中加入样品体积，0.01mL；V样总：样品提取液总体积，1mL；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，（V液体+V试剂一）/V液体=2。

注意事项：

- 1、试剂盒中试剂三和试剂四均需临用前配制，且避光保存。
- 2、为保证实验结果的准确性，需先取1-2个样做预实验。
- 3、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。
- 4、如果样本吸光值大于0.78，建议将样本用试剂一稀释后进行测定。
- 5、因提取过程中会使蛋白变性，若使用蛋白浓度计算时需用PBS单独提取后再测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com