

精氨酸 (Arg) 含量检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA2153

产品规格: 50T/48S

产品简介:

精氨酸(Arginine)是人体和动物体内的半必需氨基酸,在机体中参与蛋白质的合成代谢、以及多胺和NO的合成,起着重要的生理作用。精氨酸有降低血压的作用,在体内精氨酸能够分解成为一氧化氮,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。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生产,能使高血糖患者的血糖降至正常水平。

精氨酸在碱性介质中与甲萘酚和次氯酸钠生成红色生成物,其在525nm处有特征吸收峰,以此计算精氨酸含量。



产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体60mL×1瓶	2-8°C
提取液二	液体9mL×1瓶	2-8°C
试剂一	粉剂×1支	2-8°C
试剂二	液体15mL×1瓶	2-8°C
试剂三	液体15mL×1瓶	2-8°C
试剂四	液体15mL×1瓶	2-8°C
标准品	粉剂×1支	2-8°C

溶液的配制:

1. 试剂一: 临用前加入1.5mL无水乙醇,充分溶解。-20°C可以保存4周。
2. 工作液配制: 按照试剂一: 试剂二=50μL: 450μL (500μL, 2T) 的比例配制, 现配现用。
3. 标准品: 临用前加入0.918mL蒸馏水,充分溶解,配制成62.5μmol/mL 精氨酸标准溶液。临用前取10μL的62.5μmol/mL精氨酸标准溶液于EP管中,加入790μL蒸馏水充分溶解,配制成0.78125μmol/mL的精氨酸标准溶液。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、涡旋混匀仪、分析天平、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、蒸馏水、无水乙醇和冰。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1. 组织: 按照质量 (g): 提取液一体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL 提取液一) 加入提取液一, 冰浴匀浆后于 4°C, 12000g 离心 10min, 取 0.8mL 上清液, 再缓慢加入 0.15mL 提取液二, 缓慢吹打混匀至无气泡产生, 4°C 12000g 离心 10min 后取上清待测。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10⁶ 个): 提取液一体积 (mL) 为 5~1: 1 的比例 (建议 5 百万细胞加入 1mL 提取液一), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 于 4°C, 12000g 离心 10min, 取 0.8mL 上清液, 再缓慢加入 0.15mL 提取液二, 缓慢吹打混匀至无气泡产生, 4°C 12000g 离心 10min 后取上清待测。



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

3. 血清（浆）等液体：取 100 μ L 液体加入 1mL 提取液一，4 $^{\circ}$ C 12000g 离心 10min，取 0.8mL 上清液，再缓慢加入 0.15mL 提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4 $^{\circ}$ C 12000g 离心 10min 后取上清待测。

注：提取液二需缓慢加入，加入后会产生大量气泡，建议使用 2mL EP 管进行操作。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 525nm，蒸馏水调零。
2. 在 1.5mL EP 管中按下表步骤加样：

试剂名称 (μ L)	测定管	标准管	空白管
样本	250	-	-
标准品	-	250	-
蒸馏水	-	-	250
工作液	250	250	250
避光、冰浴 20min			
试剂三	250	250	250
震荡 30s			
试剂四	250	250	250
充分混匀后，冰浴反应 2min，于比色皿中测定在 525nm 处的吸光度，记作 A 测定，A 标准，A 空白。 ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 空白。（标准管和空白管只需做 1-2 次）			

三、精氨酸（Arg）含量计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{Arg 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = C \text{ 标准} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \div (C_{\text{pr}} \times V \text{ 样}) \times F = 0.781 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div C_{\text{pr}} \times F$$

(2) 按样本质量计算

$$\text{Arg 含量 } (\mu\text{mol/g 质量}) = C \text{ 标准} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times (V \text{ 上清} + V \text{ 提取液二}) \div (W \times V \text{ 上清} \div V \text{ 提取液一}) \times F = 0.928 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W \times F$$

(3) 按细菌或细胞数目计算

$$\text{Arg 含量 } (\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = C \text{ 标准} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times (V \text{ 上清} + V \text{ 提取液二}) \div (N \div V \text{ 上清} \div V \text{ 提取液一}) \times F = 0.928 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div N \times F$$

(4) 按液体体积计算

$$\text{Arg 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = C \text{ 标准} \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times (V \text{ 上清} + V \text{ 提取液二}) \div (V \text{ 液体} \times V \text{ 上清} \div (V \text{ 液体} + V \text{ 提取液一})) \times F = 10.205 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times F$$

C 标准：精氨酸标准溶液浓度，0.78125 μ mol/mL；V 样：反应体系中加入的样本体积，0.25mL；V 上清：提取时上清的体积，0.8mL；V 提取液二：加入提取液二的体积，0.15mL；V 提取液一：加入提取液一的体积，1mL；V 液体：液体样本体积，0.1mL；C_{pr}：蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞或细菌数量，以 10⁶ 计；F：样本稀释倍数。

注意事项：

1. 如果 ΔA 测定大于 0.8，可以用蒸馏水对样本进行稀释；如果 ΔA 测定小于 0.01，可以加大样本量。最终计算时同步修改计算公式。
2. 提取液一中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白浓度测定。如需测定蛋白含量，需另取组织。



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