

精氨酸(Arg)含量检测试剂盒(微量法)

产品货号: BA2154

产品规格: 100T/96S

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。

Arginine+α-Naphthol+ Sodium Hypochlorite — OH- Complexes (525nm)

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体110mL×1瓶	2-8°C
提取液二	液体17mL×1瓶	2-8°C
试剂一	粉剂×1支	2-8°C
试剂二	液体6mL×1瓶	2-8°C
试剂三	液体6mL×1瓶	2-8°C
试剂四	液体6mL×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0.6mL正丙醇, 充分溶解。-20℃可以保存4周。
- 2. 工作液配制:按照试剂一:试剂二=10μL:90μL(100μL,2T)的比例配制,根据样本量现配现用。
- 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/酶标仪、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、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、蒸馏水、正丙醇和冰。

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: $5\sim10$ 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℃,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℃12000g离心10min后取上清待测。



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



- 血清(浆)等液体: 取 100μL 液体加入 1mL 提取液一,4℃ 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℃ 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/酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 525nm,分光光度计用蒸馏水调零。
- 2. 在 1.5mL EP 管或 96 孔板中按下表步骤加样:

试剂名称(μL)	测定管	标准管	空白管	
样本	50	-	-	
标准品	-	50	-	
蒸馏水	-	-	50	
工作液	50	50	50	
避光、冰浴 20min				
试剂三	50	50	50	
震荡 30s				
试剂四	50	50	50	
·				

充分混匀后,冰浴反应 2min,微量玻璃比色皿/96 孔板中测定在 525nm 处的吸光度,记作 A 测定,A 标准,A 空白。 Δ A 测定=A 测定-A 空白, Δ A 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

Arg 含量 (μmol/mg prot)=C 标准×ΔA 测定÷ΔA 标准×V 样÷(Cpr×V 样)×F=0.781×ΔA 测定÷ΔA 标准÷Cpr×F。

(2) 按样本质量计算

Arg 含量(μmol/g 质量)= C 标准×ΔA 测定÷ΔA 标准×(V 上清+V 提取液二)÷(W×V 上清÷V 提取液一)×F = 0.928×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W×F。

(3) 按细菌或细胞数目计算

Arg 含量(μmol/10⁶ cell)= C 标准×ΔA 测定÷ΔA 标准×(V 上清+V 提取液二)÷(N÷V 上清÷V 提取液一)×F = 0.928×ΔA 测定÷ΔA 标准÷N×F

(4) 按液体体积计算

Arg 含量($\mu mol/mL$)= C 标准× ΔA 测定÷ ΔA 标准×(V 上清+V 提取液二)÷(V 液体×V 上清÷(V 液体+V 提取液一))×F = 10.205× ΔA 测定÷ ΔA 标准×F

C标准:精氨酸标准溶液浓度,0.78125μmol/mL; V样:反应体系中加入的样本体积,0.05mL; 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; Cpr: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 1.2,可以用蒸馏水对样本进行稀释;如果 ΔA 测定过小,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。



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