

天冬酰胺 (Asn)含量试剂盒（微板法）

产品货号：BA2774

产品规格：96样

产品简介：

天冬酰胺(Asn)是20种天然氨基酸之一，被所有生物用于蛋白质合成。在人类中是一种非必需氨基酸，因为它可以在体内由天冬氨酸和谷氨酰胺合成。

本试剂盒利用天冬酰胺酶使天冬酰胺分解成天冬氨酸和 NH_4^+ ，接着在谷氨酸脱氢酶作用下使 NH_4^+ 和 α -酮戊二酸反应，同时使NADH氧化，通过检测NADH在特异吸收波长340nm处的下降量，进而计算出天冬酰胺(Asn)的含量。

测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存温度	备注
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×2支	-20℃	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部，分别加0.55mL蒸馏水溶解备用，用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，三天内用完。
试剂二	粉剂mg×1支	2-8℃	临用前甩几下或离心，使试剂落入底部，再分别加1.1mL蒸馏水溶解备用。
试剂三	粉剂mg×1支	-20℃	
试剂四	液体15mL×1瓶	2-8℃	
试剂五	液体μL×1支	-20℃	临用前甩几下使液体落入底部，再加1mL蒸馏水混匀备用。
标准品	液体1mL×1支	2-8℃	此标准品不参与计算，仅用来验证试剂是否正常。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

天冬酰胺 (Asn)含量检测：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1. 样本制备：

(1) 组织样本：0.1g组织样本(水分充足的样本建议取0.5g左右)，加1mL的提取液研磨，粗提液全部转移到EP管中，12000rpm，离心10min，上清液待测。

(2) 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞(冰浴，功率200W，超声3s，间隔10s，重复30次)；12000rpm 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

(3) 液体样品：澄清的液体样本直接检测，若浑浊则12000rpm，离心10min 取上清液待测。

2. 上机检测：

(1) 酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm。



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

(2) 所有试剂解冻至室温(25℃)

(3) 在96孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管
样本	20
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	10
试剂四	140
混匀，室温（25℃）条件下孵育10min，于340nm处读取A1。	
试剂五	10
混匀，室温（25℃）条件下孵育15min，于340nm处读取A2， $\Delta A = A1 - A2$ 。	

【注】1. 若 ΔA 值在零附近，可增加样本取样质量W或增加样本加样体积V1(如增至40μL，则试剂四相应减少)，则改变后的W和V1需代入计算公式重新计算。

2. 若起始值A1太大如超过2(如颜色较深的植物叶片，一般色素较高，则起始值相对会偏高)，可以适当减少样本加样体积V1(如减至10μL，则试剂四相应增加)，则改变后的V1需代入计算公式重新计算。

3. 若 ΔA 的值大于0.4，则需减少样本加样体积V1(如减至10μL，则试剂四相应增加)，则改变后的V1需代入计算公式重新计算。

结果计算：

1. 按照样本质量计算：

$$\text{天冬酰胺(Asn)含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) = 3.22 \times \Delta A \div W$$

$$\text{天冬酰胺(Asn)含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) \times Mr = 425.4 \times \Delta A \div W$$

2. 按细胞数量计算：

$$\text{天冬酰胺(Asn)含量}(\text{nmol}/10^4\text{cell}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) = 6.43 \times \Delta A$$

$$\text{天冬酰胺(Asn)含量}(\text{ng}/10^4\text{cell}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \times Mr = 849.5 \times \Delta A$$

3. 按照液体体积计算：

$$\text{天冬酰胺(Asn)含量}(\mu\text{mol/mL}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V1 = 3.22 \times \Delta A$$

$$\text{天冬酰胺(Asn)含量}(\mu\text{g/mL}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V1 \times Mr = 425.4 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积，1mL；V1---样本加样体积，0.02mL；V2---反应体系总体积，2×10⁻⁴L；d---96孔板光径，0.5cm；ε---NADH摩尔消光系数，6.22×10³L/mol/cm；500---细胞数量；万；W---样本质量，g；Mr---天冬酰胺分子量，132.12。



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