



精氨酸 (Arg) 含量检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC5635

规格: 100T/96S

产品内容: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体 110 mL×1 瓶	2-8°C保存
提取液二	液体 17 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	粉剂×1 支	2-8°C保存
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 6 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	液体 6 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 支	2-8°C保存

溶液的配制:

- 1、试剂一: 临用前加入 0.6mL 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=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 62.5 μmol/mL 精氨酸标准溶液。临用前取 10μL 的 62.5 μmol/mL 精氨酸标准溶液于 EP 管中, 加入 790 μL 蒸馏水充分溶解, 配制成 0.78125 μmol/mL 的精氨酸标准溶液。

产品说明:

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。



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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

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、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℃，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。
2. 细胞：按照细胞数量（10⁶个）：提取液一（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。
3. 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：试剂二需缓慢加入，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} 。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

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

- (2) 按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{Arg 含量} (\mu\text{mol}/\text{g 质量}) &= C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (W \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) \times F \\ &= 0.928 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F \end{aligned}$$

- (3) 按细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{Arg 含量} (\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) &= C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (N \div V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) \times F \\ &= 0.928 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times F \end{aligned}$$

- (4) 按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{Arg 含量} (\mu\text{mol}/\text{mL}) &= C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (V_{\text{液体}} \times V_{\text{上清}} \div (V_{\text{液体}} + V_{\text{提取液一}})) \times F \\ &= 10.205 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F \end{aligned}$$

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；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 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1.2，可以用蒸馏水对样本进行稀释；如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 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。

实验实例：

- 1、称取 0.1162g 小鼠肾脏组织，加入提取液进行冰浴匀浆，按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}}=A_{\text{测定}}-A_{\text{空白}}=0.524-0.232=0.292$ ， $\Delta A_{\text{标准}}=A_{\text{标准}}-A_{\text{空白}}=0.575-0.232=0.343$ ，带入公式计算：
 $\text{Arg 含量}(\mu\text{mol/g 质量})=0.928 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W=6.799 \mu\text{mol/g 质量}$
- 2、称取 0.1186g 花生组织，加入提取液进行冰浴匀浆，按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}}=A_{\text{测定}}-A_{\text{空白}}=0.556-0.232=0.324$ ， $\Delta A_{\text{标准}}=A_{\text{标准}}-A_{\text{空白}}=0.575-0.232=0.343$ ，带入公式计算：
 $\text{Arg 含量}(\mu\text{mol/g 质量})=0.928 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W=7.391 \mu\text{mol/g 质量}$
- 3、取人血清按前处理和实验步骤进行实验，用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}}=A_{\text{测定}}-A_{\text{空白}}=0.3-0.232=0.068$ ， $\Delta A_{\text{标准}}=A_{\text{标准}}-A_{\text{空白}}=0.575-0.232=0.343$ ，带入公式计算：
 $\text{Arg 含量}(\mu\text{mol/mL})=10.205 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F=2.023 \mu\text{mol/mL}$ 。

参考文献：

[1] Francis P S, Barnett N W, Foitzik R C, et al. Chemiluminescence from the Sakaguchi reaction [J]. Analytical Biochemistry, 2004, 329(2):340-341.

相关系列产品：

- BC1500/BC1505 植物硝态氮含量检测试剂盒
- BC1520/BC1525 植物氨态氮含量检测试剂盒
- BC1530/BC1535 尿素氮（BUN）含量检测试剂盒
- BC4370/BC4375 植物中酰胺含量检测试剂盒
- BC5550/BC5505 精氨酸酶活性检测试剂盒

