CheKine™ 氨基酸（AA）含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1460　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

≠	**检测范围：**0.078125-2.5 μmol/mL		**灵敏度：**0.078125 μmol/mL
	适用样本：动植物组织、细菌、细胞、细胞上清、血清（浆）、尿液		
	保质期：4℃，避光保存 12 个月		

01 背景与原理

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。

本试剂盒检测原理是氨基酸的α-氨基可与水合茚三酮反应，产生蓝紫色化合物，在 570 nm 处有特征吸收峰；通过测定 570 nm 吸光度来计算氨基酸含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	70 mL	70 mL×2	4℃
Assay Buffer	7.5 mL	15 mL	4℃
Substrate Cofactor	Powder×2 vials	Powder×4 vials	4℃
Substrate	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 570 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS、去离子水、无水乙醇	清洗样本/配制标准品/配制试剂用
其他	匀浆器（组织样本）、水浴锅、恒温箱、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 脯氨酸和羟脯氨酸与茚三酮反应在 570 nm 处无吸收峰，因此，570 nm 处测定结果不含这两种氨基酸的量。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Assay Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Substrate Cofactor	临用前配制；取一瓶 Substrate Cofactor 加入 2.5 mL Assay Buffer 充分溶解	现配现用；有毒且有刺激性，建议在使用过程中做好个人防护
Working Substrate	临用前配制；48T 加入 2 mL 95%乙醇充分溶解，96T 加入 4 mL 95%乙醇充分溶解	未用完的试剂可 4℃避光保存 1 周；有毒且有刺激性，建议在使用过程中做好个人防护
100 μmol/mL Standard	临用前配制，加 1.332 mL 去离子水，充分溶解得到 100 μmol/mL 甘氨酸标准品	未用完的试剂可 4℃避光保存 1 个月

05-1-2 标准品配制

使用 100 μmol/mL Standard，按照下表所示，进一步稀释标准品。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	标准品（μL）	Extraction Buffer（μL）	浓度（μmol/mL）
1	25 μL of 100 μmol/mL	975	2.5
2	100 μL of 2.5 μmol/mL	100	1.25
3	100 μL of 1.25 μmol/mL	100	0.625
4	100 μL of 0.625 μmol/mL	100	0.3125
5	100 μL of 0.3125 μmol/mL	100	0.15625
6	100 μL of 0.15625 μmol/mL	100	0.078125
空白	0	200	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- **动物组织：**称取约 0.1 g 动物组织样本，加入 1 mL Extraction Buffer，室温充分匀浆，转移到 1.5 mL EP 管中（推荐使用螺旋盖 EP 管），盖紧后（防止水分散失）置于沸水浴 15 min；自来水冷却后，10000 g，室温离心 10 min，取上清液，待测。
- **植物组织：**称取约 0.1 g 植物组织样本，加入 1 mL Extraction Buffer 捣碎，室温超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），转移到 1.5 mL EP 管中（推荐使用螺旋盖 EP 管），盖紧后（防止水分散失）置于沸水浴 15 min；自来水冷却后，10000 g，室温离心 10 min，取上清液，待测。
- **细菌或细胞：**收集 5×10^6 个细菌或细胞，用冷 PBS 清洗细菌或细胞，800 g 离心 2 min，弃上清液。加入 1 mL Extraction Buffer，室温超声波破碎细菌或细胞 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），转移到 1.5 mL EP 管中（推荐使用螺旋盖 EP 管），盖紧后（防止水分散失）置于沸水浴 15 min；自来水冷却后，10000 g，室温离心 10 min，取上清液，待测。
- **血清（浆）、细胞上清、尿液等液体：**吸取 0.5 mL 液体加入 0.5 mL Extraction Buffer（推荐使用螺旋盖 EP 管），盖紧后（防止水分散失）置于沸水浴 15 min；自来水冷却后，10000 g，室温离心 10 min，取上清液，待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 570 nm。
2. **检测体系配制**：在 1.5 mL EP 管（推荐使用螺旋盖 EP 管）中按照如下方式操作。

试剂	空白管（μL）	标准管（μL）	测定管（μL）
Extraction Buffer	10	0	0
Standard	0	10	0
样本	0	0	10
Working Substrate Cofactor	50	50	50
Working Substrate	20	20	20

3. 混匀后盖紧管盖（防止水分散失），置于沸水浴中保温 5 min，冰浴冷却 30 s 后加入 120 μL 60%乙醇，反复颠倒 EP 管数次，每管取出 150 μL 加入 96 孔板中。
4. **吸光度检测：**于 570 nm 处测定吸光值，分别记为 $A_{空白}$、$A_{标准}$和 $A_{测定}$，显色后务必在 30 min 内测完。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn]>进入“**技术中心**”>查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴，$\Delta A_{标准}$为 x 轴，绘制标准曲线。将$\Delta A_{测定}$代入方程得到 y 值（μmol/mL）。

3. 样本氨基酸含量的计算：

- 按样本质量计算：

氨基酸含量(μmol/g)=$y\div(W\div V_{提取})\times n$**=y÷W×n**

- 按细菌或细胞数量计算

氨基酸含量(μmol/10^4)=$y\div(N\div V_{提取})\times n$**=y÷N×n**

- 按液体体积计算

氨基酸含量(μmol/mL)=**y×2×n**

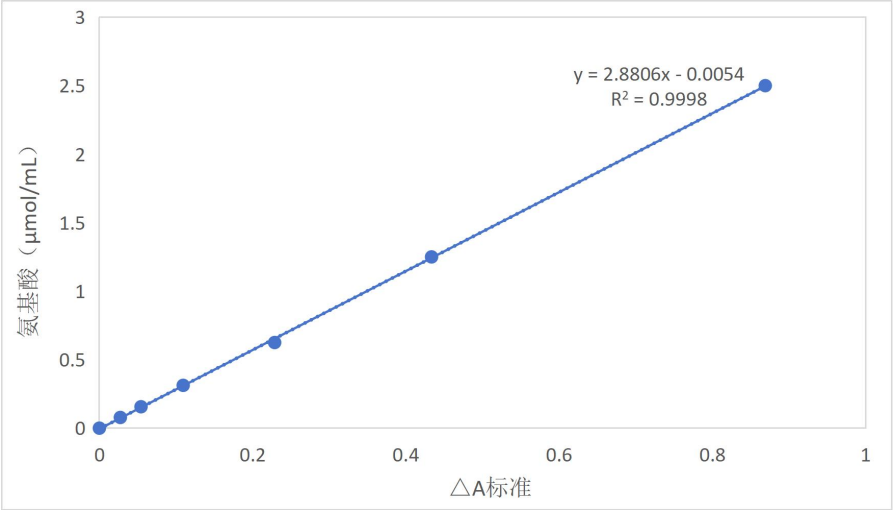
- 按蛋白浓度计算

氨基酸含量(μmol/mg prot)=**y÷Cpr×n**

W：样本质量，g；$V_{提取}$，加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；n：样本的稀释倍数；Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL；N：细菌或细胞数量，以 10^4 为单位（例如细菌数量为 5×10^6，N=500）；2：提取液体时的稀释倍数，(0.5 mL+0.5 mL)/0.5 mL=2。

07 结果展示

典型标准曲线：y=2.8806x-0.0054，R^2=0.9998



示例-1：取 0.1 g 绿萝叶，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$=0.295-0.065=0.23，代入标准曲线，计算 y=0.657。按样本质量计算得：氨基酸含量(μmol/g)=y÷(W÷$V_{提取}$)×n**=y÷W×n**=6.57 μmol/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本 $A_{测定}$过高或者过低怎么办?**

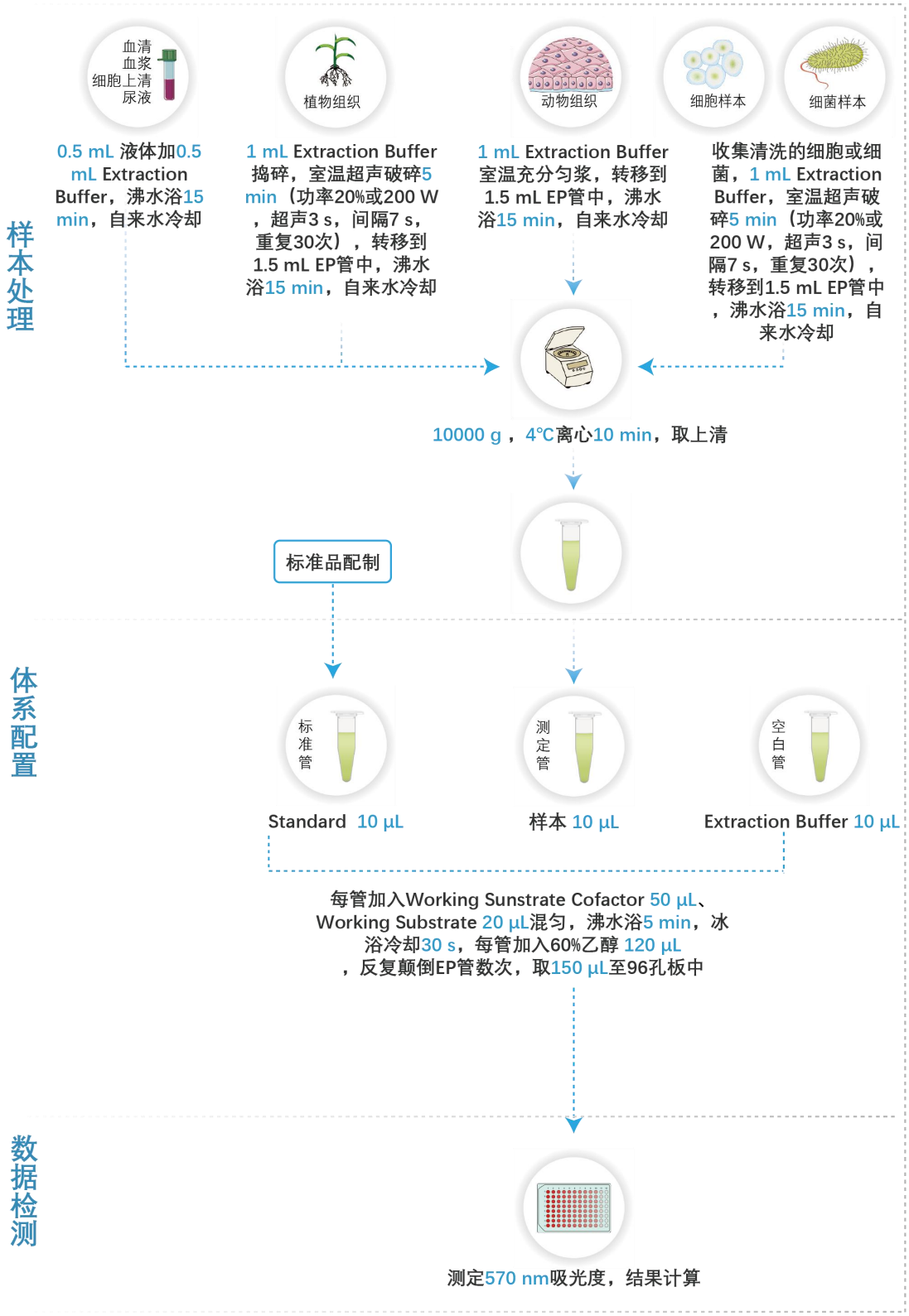
如果样本 $A_{测定}$>2.5 μmol/mL 的$\Delta A_{标准}$，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。如果样本的 $A_{测定}$<0.01，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1410	CheKine™ 谷丙转氨酶（ALT/GPT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1420	CheKine™ 谷草转氨酶（AST/GOT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1430	CheKine™ 脯氨酸（PRO）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1440	CheKine™ 谷氨酸（Glu）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1450	CheKine™ 半胱氨酸（Cys）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 氨基酸（AA）含量分析流程示意图

（Abbkine 货号：KTB1460）



V1.0