

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ088

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(640-660 nm)

Elabscience®总氨基酸(T-AA)比色法测试盒

Total Amino Acids (T-AA) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于血清(浆)、尿液、动植物组织中的总氨基酸含量检测。

检测原理

铜离子能与各种氨基酸络合产生蓝绿色的络合物，在一定波长下颜色的深浅与总氨基酸的含量成正比。

本试剂盒检测组织样本时，需要测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：GBQ162)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	粉剂 A (Powder A)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酸试剂 (Acid Reagent)	0.4 mL×1 支	0.8 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	粉剂 B (Powder B)	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	粉剂 C (Powder C)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	蛋白沉淀剂 (Protein Precipitator)	8 mL×1 瓶	15 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(640-660 nm，最佳检测波长为 650 nm)。

试剂准备

规格 1 (48T)

① 检测前试剂平衡至室温。

② 试剂一工作液配制：

取一瓶试剂一，加入到12 mL双蒸水中，充分搅拌成蓝色浑浊液，然后缓慢滴加0.35 mL试剂二，边加边搅拌至浑浊液全部转换成淡蓝色透明液体，再继续搅拌30 min，完成后2-8℃保存一个月。

③ 试剂三工作液配制：

每瓶试剂三粉剂加入6 mL双蒸水，充分溶解后使用，未用完部分2-8℃保存一个月。

④ 200 mmol/L标准品配制：

每支试剂四粉剂溶于5 mL双蒸水中，充分溶解后使用，未用完部分2-8℃保存一个月。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	10	20	40	50	60	80	100
200 mmol/L 标准品 (μL)	0	10	20	40	50	60	80	100
双蒸水 (μL)	200	190	180	160	150	140	120	100

规格 2 (96T)

① 检测前试剂平衡至室温。

② 试剂一工作液配制：

取一瓶试剂一，加入到24 mL双蒸水中，充分搅拌成蓝色浑浊液，然后缓慢滴加0.7 mL试剂二，边加边搅拌至浑浊液全部转换成淡蓝色透明液体，再继续搅拌30 min，完成后2-8℃保存一个月。

③ 试剂三工作液配制：

每瓶试剂三粉剂加入12 mL双蒸水，充分溶解后使用，未用完部分2-8℃保存一个月。

④ 200 mmol/L标准品配制：

每支试剂四粉剂溶于5 mL双蒸水中，充分溶解后使用，未用完部分2-8℃保存一个月。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	10	20	40	50	60	80	100
200 mmol/L 标准品 (μL)	0	10	20	40	50	60	80	100
双蒸水 (μL)	200	190	180	160	150	140	120	100

样本准备

① 样本处理

血清(浆)、尿液等液体样本：可直接测定。

组织样本：常规匀浆处理(生理盐水(0.9% NaCl 溶液)或 PBS(0.01 M, pH 7.4))。匀浆后，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：3.64-100 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%大鼠心组织	不稀释
人尿液	不稀释	10%大鼠肝组织	不稀释
大鼠血浆	不稀释	10%小鼠肝组织	不稀释
猪血清	不稀释	10%绿萝叶组织	不稀释

注：稀释液为试剂五。

实验关键点

试剂一工作液配制时，需要注意其溶质是否溶解完全。

操作步骤

- ① 标准管：取 30 μL 不同浓度标准品，加入对应的标准管中；
测定管：取 30 μL 待测样本，加入到对应的测定管中；
- ② 向步骤①中各管加入 120 μL 试剂五；
- ③ 涡旋混匀 5 s，3500 × g 离心 10 min；
- ④ 取③中各管 100 μL 上清，到新的标准管、测定管中；
- ⑤ 向④中各管加入 200 μL 试剂一工作液；
- ⑥ 涡旋混匀 5 s；
- ⑦ 向⑥中各管加入 100 μL 试剂三工作液；
- ⑧ 涡旋混匀 3 s，3500 × g 离心 10 min，取 300 μL 上清于酶标板中，酶标仪 650 nm 处测各孔 OD 值。

操作表

	标准管	测定管
不同浓度标准品(μL)	30	--
待测样本(μL)	--	30
试剂五(μL)	120	120
涡旋混匀 5 s，3500 × g 离心 10 min，取 100 μL 上清待测。		
上清(μL)	100	100
试剂一工作液(μL)	200	200
涡旋混匀 5 s。		
试剂三工作液(μL)	100	100
涡旋混匀 3 s，3500 × g 离心 10 min，取 300 μL 上清于酶标板中，酶标仪 650 nm 处测各孔 OD 值。		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：GBQ162)。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清(浆)、尿液中总氨基酸含量计算公式：

$$\begin{array}{l} \text{总氨基酸含量} \\ (\text{mmol/L}) \end{array} = (\Delta A_{650} - b) \div a \times f$$

组织中总氨基酸含量计算公式：

$$\begin{array}{l} \text{总氨基酸含量} \\ (\text{mmol/gprot}) \end{array} = (\Delta A_{650} - b) \div a \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解：

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

y：标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：标准品的浓度

ΔA_{650} ：样本测定 OD 值-空白 OD 值

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr} ：样本的蛋白浓度(gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

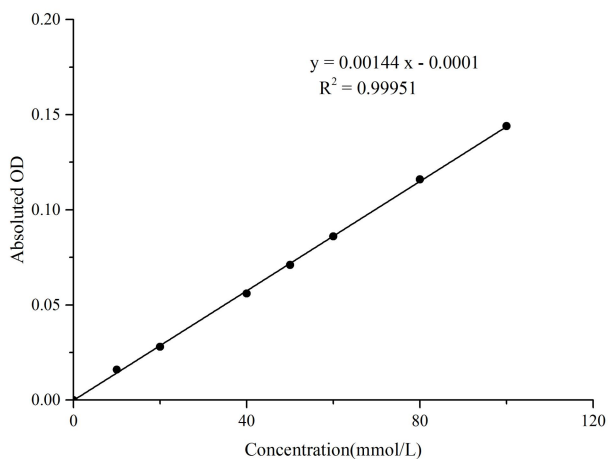
检测范围	3.64-100 mmol/L	平均批间差	6.5 %
灵敏度	3.03 mmol/L	平均批内差	4.0 %
平均回收率	102 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 标准品浓度测定数据

标准品浓度 (mmol/L)	0	10	20	40	50	60	80	100
OD 值	0.072	0.087	0.099	0.126	0.140	0.156	0.185	0.214
	0.069	0.085	0.097	0.126	0.142	0.157	0.186	0.215
平均 OD 值	0.070	0.086	0.098	0.126	0.141	0.156	0.186	0.214
绝对 OD 值	0	0.016	0.028	0.056	0.071	0.086	0.116	0.144

② 数据作图(如下图)



附录2 实例分析

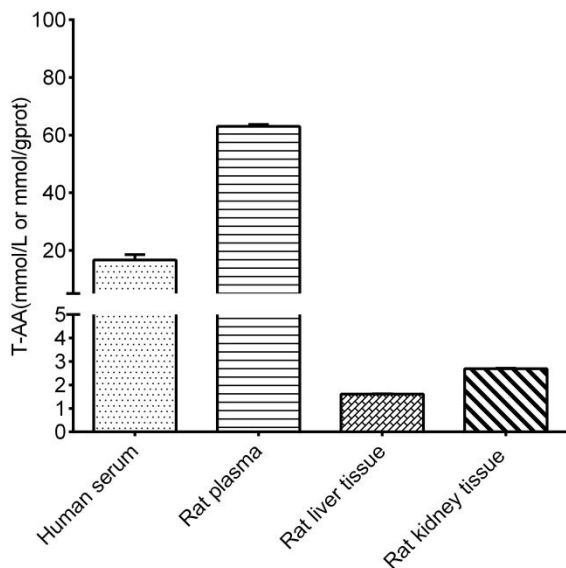
例如检测人尿液(数据仅供参考):

取30 μL 人尿液,按照说明书操作,结果如下。

标准曲线为 $y = 0.0014x - 0.0001$,测定孔平均OD值0.134,空白孔平均OD值0.070,计算结果为:

$$\text{总氨基酸含量} = (0.134 - 0.070 + 0.0001) \div 0.0014 = 45.79 \text{ mmol/L} \\ (\text{mmol/L})$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量30 μL)、大鼠血浆(加样量30 μL)、大鼠肝组织(10%组织匀浆蛋白浓度9.17 gprot/L,加样量30 μL)、大鼠肾组织(10%组织匀浆蛋白浓度7.56 gprot/L,加样量30 μL)中总氨基酸含量(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Tseng S.Ja. An acid degradable, lactate oxidizing nanoparticle formulation for non-small cell lung cancer virotherapy[J]. Nano Today. IF:18.962
2. Salman T M, Iyanda M A, Alli-Oluwafuyi A M, et al. Telfairia occidentalis stimulates hepatic glycolysis and pyruvate production via insulin-dependent and insulin-independent mechanisms[J]. Metabolism Open, 2021, 10(1-10):100092. IF:8.694
3. Zhang Y, Wang Z, Shi B, et al. Effect of gingival mesenchymal stem cell-derived exosomes on inflammatory macrophages in a high-lipid microenvironment[J]. International Immunopharmacology, 2021, 94(9499):107455. IF:4.932
4. Alsayyah A, ElMazoudy R, Al-Namshan M, et al. Chronic neurodegeneration by aflatoxin B1 depends on alterations of brain enzyme activity and immunoexpression of astrocyte in male rats[J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2019, 182: 109407. IF:4.527
5. Faheem M. Synthesis and Biological Evaluation of Benzimidazole Derivatives as Potential Neuroprotective Agents in an Ethanol-Induced Rodent Model[J]. ACS Chemical Neuroscience, 2021, 12(3):489–505. IF:4.418
6. Ren F , Xu X , Xu J B , et al. Compound essential oils relieve oxidative stress caused by PM 2. 5 exposure by inhibiting autophagy through the AMPK / mTOR pathway[J]. Environmental Toxicology, 2021 Sep; 36(9):1765-1774. IF:4.119
7. Mohsin Alvi A, Tariq Al Kury L, Umar Ijaz M, et al. Post-Treatment of Synthetic Polyphenolic 1, 3, 4 Oxadiazole Compound A3, Attenuated Ischemic Stroke-Induced Neuroinflammation and Neurodegeneration[J]. Biomolecules, 2020, 10(6): 816. IF:4.082
8. Darband S G, Sadighparvar S, Yousefi B, et al. Quercetin attenuated oxidative DNA damage through NRF2 signaling pathway in rats with DMH induced colon carcinogenesis[J]. Life sciences, 2020(253-). IF:3.708
9. Shah F A, Ali T, Khan A U. Potent Natural Antioxidant Carveol Attenuates MCAO-induced Oxidative stress, Neurodegeneration by Regulating the Nrf-2 pathway[J]. Frontiers in Neuroscience, 2020, 14: 659. IF:3.707
10. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al. Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. Gene, 2020, 768(7):145288. IF:3.688
11. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al.

- Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. *Gene*, 2020, 768(7):145288. IF:3.688
12. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
 13. Li J, Ma X J, Wu X, et al. Adiponectin modulates steroid hormone secretion, granulosa cell proliferation and apoptosis via binding its receptors during hens' high laying period[J]. *Poultry Science*, 2021, 100(7): 101197. IF:3.352
 14. Fu H, Liu L, Tong Y, et al. The antidepressant effects of hesperidin on chronic unpredictable mild stress-induced mice[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2019. IF:3.04
 15. Guo Y, Liu C, Zhang J, et al. A relationship between MAPK/ERK pathway expression and neuronal apoptosis in rats with white matter lesions[J]. *European review for medical and pharmacological sciences*, 2020, 24(8): 4412-4419. IF:3.024
 16. Li L C , Dong S H , Li S H , et al. Downregulation of circular RNA circDOCK7 identified from diabetic rats after sleeve gastrectomy contributes to hepatocyte apoptosis through regulating miR-139-3p and MCM3[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2021, 548:134-142. IF:2.985
 17. Kumar S, Ivanov S, Lagunin A, et al. Attenuation of Hyperhomocysteinemia Induced Vascular Dementia by Sodium Orthovanadate Perhaps via PTP1B: Pertinent Downstream Outcomes[J]. *Behavioural Brain Research*, 2019. IF:2.77
 18. Yin X, Zhao J, Jiang H, et al. Impact of Xenon on CLIC4 and Bcl-2 Expression in Lipopolysaccharide and Hypoxia-Ischemia-Induced Periventricular White Matter Damage[J]. *Neonatology*, 2018. IF:2.554
 19. Pan H Z, Zhang L J, Liu Y W, et al. Cold-inducible RNA binding protein agonist enhances the cardioprotective effect of UW solution during extended heart preservation[J]. *Artificial Organs*, 2020. IF:2.259
 20. Uysal N, Yuksel O, Kizildag S, et al. Regular Aerobic Exercise Correlates with Reduced Anxiety and Increased Levels of Irisin in Brain and White Adipose Tissue[J]. *Neuroscience Letters*, 2018. IF:2.173