

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K055-S

产品规格: 50 Assays(36 samples)/100 Assays(86 samples)

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计(635-655 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)、尿液和动植物组织中的总氨基酸 (T-AA) 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 650 nm 处络合物颜色的深浅与总氨基酸的含量成正比。

本试剂盒检测动植物组织样本时，需测定总蛋白浓度，动物组织样本推荐使用 BCA 法 (货号: E-BC-K318-M)；植物组织样本推荐使用考马斯亮蓝法 (货号: E-BC-K168-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50assays)	规格 2 (Size 2) (100assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	粉剂 A (Powder A)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酸试剂 (Acid Reagent)	1 mL×1 支	1 mL×2 支	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	粉剂 B (Powder B)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C 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°C 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	蛋白沉淀剂 (Protein Precipitator)	26 mL×1 瓶	52 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月

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：紫外-可见分光光度计（635-655 nm，最佳检测波长 650 nm）、涡旋混匀仪、离心机、磁力搅拌器

试剂：PBS(0.01 M, pH 7.4)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25°C)。

② 试剂一工作液的配制：

取一瓶试剂一，加入到45 mL双蒸水中，充分搅拌成蓝色浑浊液，然后缓慢滴加0.875 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°C保存一个月。

③ 试剂三工作液的配制：

每瓶试剂三粉剂加入22.5 mL双蒸水，充分溶解后使用，未用完部分2-8°C保存一个月。

④ 200 mmol/L标准品的配制：

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°C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
标准品浓度(mmol/L)	0	20	40	50	60	80	100
200 mmol/L 标准品(μL)	0	40	80	100	120	160	200
双蒸水(μL)	400	360	320	300	280	240	200

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：按照组织样本质量(g)：PBS (0.01 M, pH 7.4) 体积(mL)= 1：9 的比例匀浆，4°C，10000 × g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测，4 h 内检测有效，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

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：4.73-100 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%大鼠脾组织	不稀释
人尿液	不稀释	10%大鼠肝组织	不稀释
大鼠血清	不稀释	10%小鼠肾组织	不稀释
10%大鼠肺组织	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 80 μL 不同浓度标准品，加入对应的标准管中；
测定管：取 80 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 320 μL 试剂五；
- ③ 涡旋混匀 5 s，3500 \times g 离心 10 min；
- ④ 取步骤③中各管 300 μL 上清，到新的标准管和测定管中；
- ⑤ 向步骤④中各管加入 800 μL 试剂一工作液；
- ⑥ 涡旋混匀 5 s；
- ⑦ 向步骤⑥中各管加入 400 μL 试剂三工作液；
- ⑧ 涡旋混匀 5 s，3500 \times g 离心 10 min，取上清，紫外-可见分光光度计于 650 nm 处，1cm 光径石英比色皿，双蒸水调零后，测定各管 OD 值。

操作表

	标准管	测定管
不同浓度标准品(μL)	80	--
待测样本(μL)	--	80
试剂五(μL)	320	320
涡旋混匀 5 s，3500 \times g 离心 10 min，取 300 μL 上清待测。		
上清(μL)	300	300
试剂一工作液(μL)	800	800
涡旋混匀 5 s。		
试剂三工作液(μL)	400	400
涡旋混匀 5 s，3500 \times g 离心 10 min，取上清，紫外-可见分光光度计于 650 nm 处，1cm 光径石英比色皿，双蒸水调零后，测定各管 OD 值。		

本试剂盒检测动物组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：E-BC-K318-M）；检测植物组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法（货号：E-BC-K168-M）。

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：

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

注解：

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

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

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

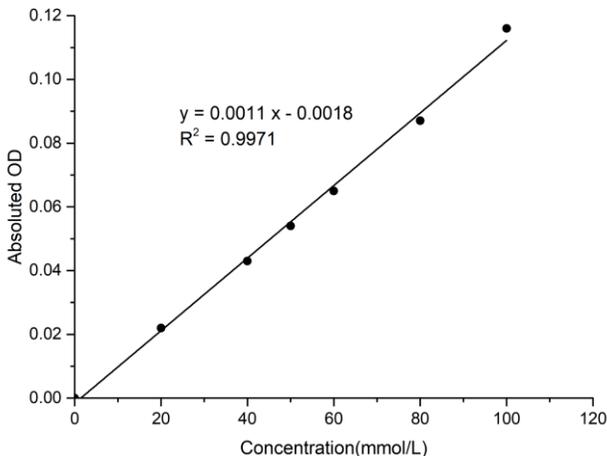
检测范围	4.73-100 mmol/L	批间差	3.5-6.3%
灵敏度	4.73 mmol/L	批内差	3.1-4.9%
加标回收率	99-103%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量 80 μL ，按照操作步骤进行实验，OD值如下表所示：

标准品浓度 (mmol/L)	0	20	40	50	60	80	100
OD 值	0.008	0.029	0.051	0.060	0.071	0.091	0.128
	0.008	0.030	0.051	0.063	0.075	0.099	0.119
平均 OD 值	0.008	0.030	0.051	0.062	0.073	0.095	0.124
绝对 OD 值	0.000	0.022	0.043	0.054	0.065	0.087	0.116

② 绘制标曲(如下图)



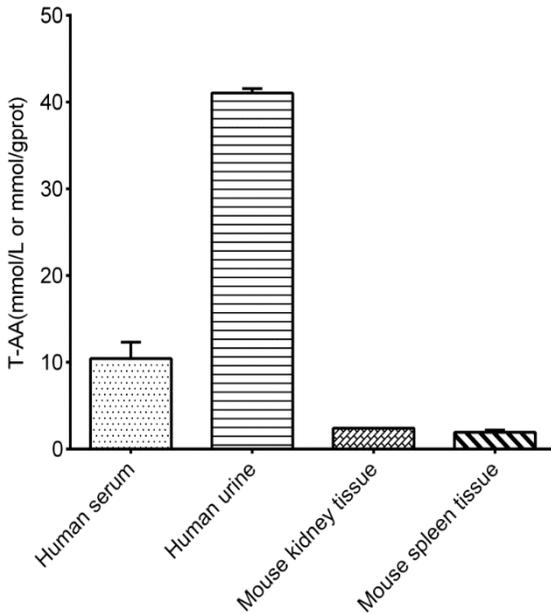
附录2 实例分析

例如检测人尿液(数据仅供参考):

取 80 μL 人尿液样本,按照说明书操作,结果如下:标准曲线: $y = 0.0011x - 0.0018$, 测定管平均 OD 值为 0.051, 空白管平均 OD 值为 0.008, 计算结果为:

$$\text{总氨基酸含量} = (0.051 - 0.008 + 0.0018) \div 0.0011 = 40.73 \text{ mmol/L} \\ (\text{mmol/L})$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量 80 μL)、人尿液(加样量 80 μL)、小鼠肝组织(10%组织匀浆蛋白浓度为 10.173 gprot/L , 加样量 80 μL)、小鼠脾组织(10%组织匀浆蛋白浓度为 5.827 gprot/L , 加样量 80 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。

