

## L-Asparagine Content Assay Kit

### 天冬酰胺(Asn)含量测定试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1788A	天冬酰胺(Asn)含量测定试剂盒 分光法	48T

#### 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 $\text{NH}_4^+$ , 接着在谷氨酸脱氢酶作用下使 $\text{NH}_4^+$ 和 $\alpha$ -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。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末×2 支	-20°C保存	用前甩几下或离心使粉体落入底部, 分别加 0.55mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20°C保存, 禁止反复冻融, 三天内用完。
试剂二	粉末×1 支	4°C保存	用前甩几下或离心使粉体落入底部, 再分别加 1.1mL 蒸馏水溶解备用。
试剂三	粉末×1 支	-20°C保存	
试剂四	30mL×1 支	4°C保存	
试剂五	液体×1 支	-20°C保存	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	1mL×1 支	4°C保存	此标准品不参与计算, 仅用来验证试剂是否正常。

#### 使用方法:

##### 一、样本准备

##### 1. 组织样本:

(a) 取约 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, 粗提液全部转移到离心管中;

(b) 12000rpm, 常温离心 10min, 上清液待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

##### 2. 细胞/细菌样本:

(a) 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;

(b) 取  $5 \times 10^6$  个细菌或细胞加入 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);

(c) 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

##### 3. 液体样本:

澄清的液体可直接检测; 若浑浊则离心后取上清液检测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



## 二、样品测定

1. 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
2. 所有试剂解冻至室温（25℃）。
3. 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	60
试剂一	20
试剂二	20
试剂三	20
试剂四	600
混匀，室温（25℃）条件下孵育 10min，于 340nm 处读取 A1。	
试剂五	20
混匀，室温（25℃）条件下孵育 10min，于 340nm 处读取 A2， $\Delta A=A1-A2$ 。	

- 【注】：** 1.若 $\Delta A$  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 $\Delta A$  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。

## 三、结果计算

1. 按照样本质量计算：

$$\text{天冬酰胺(Asn)含量}(\mu\text{mol/g 鲜重})=[\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) = 2 \times \Delta A \div W$$

$$\text{天冬酰胺(Asn)含量}(\mu\text{g/g 鲜重})=[\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) \times Mr = 264.24 \times \Delta A \div W$$

2. 按细胞数量计算：

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

$$\text{天冬酰胺(Asn)含量}(\text{ng}/10^4 \text{ cell})=[\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \times Mr = 528.5 \times \Delta A$$

3. 按照液体体积计算：

$$\text{天冬酰胺(Asn)含量}(\mu\text{mol}/\text{mL})=[\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V1 = 2 \times \Delta A$$

$$\text{天冬酰胺(Asn)含量}(\mu\text{g}/\text{mL})=[\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V1 \times Mr = 264.24 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积，1 mL

V1---样本加样体积，0.06mL

V2---反应体系总体积，7.4×10<sup>-4</sup> L

d---光径，1cm

ε---NADH 摩尔消光系数，6.22×10<sup>3</sup> L/mol/cm

W---样本质量，g

500---细胞数量；万

Mr---天冬酰胺分子量，132.12

## 注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 有效期：

-20℃保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

