

色氨酸含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHF1-C24	色氨酸含量检测试剂盒	24T	常量法
AYHF1-C48		48T	

一、测定意义：

色氨酸（Trp）是一种参与多种生物合成过程的必需氨基酸，它不仅参与多种蛋白质的合成，还是许多具有生物活性物质的前体。

二、测定原理：

在 H_2SO_4 中，L-色氨酸与对二甲苯甲醛发生缩合反应，生成希夫碱对二甲氨基苯甲醛缩色氨酸为蓝色，该产物在 600nm 处有吸收峰。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 35mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃避光保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×1 瓶	2-8℃保存
试剂二的配制： 用时每瓶粉剂加入 1mL 蒸馏水，混匀充分溶解，现用现配。			
标准品（10mg）	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 瓶	2-8℃保存
标准液的配制： 临用前加入 1 mL 蒸馏水混匀溶解，配制成 10 mg/mL 标准液备用，4℃可保存 2 周。			

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液体积（mL）为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10^4 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、液体样本：（如血清）直接检测或适当稀释后进行检测。

测定步骤

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 600nm，蒸馏水调零；
- 不同浓度标准液配制：将 10 mg/mL 标准液用蒸馏水稀释至 0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625、0.0078125mg/mL；

3、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	标准管	空白管
样品（μL）	100	-	-
双蒸水（μL）	-	-	100
不同浓度标准液（μL）	-	100	-
试剂一（μL）	900	900	900
充分混匀，沸水浴 2 min，冷却至室温			
试剂二（μL）	10	10	10
充分混匀，沸水浴 3 min（密封以防止水分散失），立即冷却至室温。混匀，吸取 1 mL 于比色皿中，测定 600 nm 处吸光值，记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 和 $A_{\text{空白}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次。			

五、色氨酸含量测定：

1、标准曲线绘制：以 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度（y, mg/mL）；

2、按液体样本体积计算

计算公式：色氨酸（mg/mL）= y

3、按样本蛋白浓度计算

计算公式：色氨酸（mg/mg prot）= $y \times V_{\text{样总}} \div C_{\text{pr}} = y \div C_{\text{pr}}$

4、按样本鲜重计算

计算公式：色氨酸（mg/g）= $y \times V_{\text{样总}} \div W = y \div W$

5、按照细菌或细胞数量计算

计算公式：色氨酸（mg / 10^4 cell）= $y \times V_{\text{样总}} \div N = y \div N$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W:

样本质量, g; N: 细菌或细胞总数, 以万计。

六、 注意事项:

- 1、如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 请将样品用提取液进行适当的稀释再测定, 并在计算公式中乘以稀释倍数;
- 2、提取过程会使蛋白变性, 若使用蛋白浓度计算, 需单独使用 PBS 提取后再测定蛋白浓度;
- 3、为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日