天净沙系列

CAT#: 7-C63-68-3

常温运输及保存

天净沙

L-甲硫氨酸含量测定试剂盒

L-Met Assay Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是比色法 L-甲硫氨酸（L-Met，L-Methionine，CAS 63-68-3）含量测定试剂盒，其原理利用是 L-甲硫氨酸的硫醚基团能与特定反应物发生反应最后生成在 513 nm 有光吸收的物质，通过测定该波长下的光吸收即可测定各种生物样本中 L-甲硫氨酸的含量。本产品有如下特点：

1. 操作简单快捷。
2. 即开即用，用户不用单独准备各种试剂。
3. 提供 L-甲硫氨酸作为阳性对照。
4. 适用于检测各种材料中的 L-甲硫氨酸含量。
5. 基于硫醚基团检测，故样本中不得还有其它带硫醚基团的物质，如有，需预处理以除去。如不能去除，则需选用专一性更高的酶联检测法。
6. 检测下限 15.6 μM、线性范围 31.3 μM-1 mM。
7. 本产品足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 500 次 200 μL 体系的 96 孔板检测。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
L-甲硫氨酸测定反应液	7-C63-68-3r	60 mL	60 mL 本色瓶
L-甲硫氨酸测定底物液	7-C63-68-3s	5 mL	10 mL 棕色瓶
L-甲硫氨酸测定显色液	7-C63-68-3c	25 mL	30 mL 本色瓶
L-甲硫氨酸测定标准品	7-C63-68-3sd	3 mg	30 mL 本色瓶
使用手册	7-C63-68-3sc	1 份	无

运输及保存

常温运输及保存，有效期一年。

自备物品

超纯水、分光光度计

使用方法

一、首次使用本产品时，制备标准品母液

1. 配置 1 mM 标准品母液：在装有 L-甲硫氨酸测定标准品的瓶中加入 20 mL 自备超纯水，颠倒摇晃 20 次溶解得到 1 mM 标准品母液。没用完的此溶液需要-20℃保存。

二、制备待测样本

2. 待测样本中也不得含有高浓度的、在 513 nm 有光吸收的物质；不得含有带硫醚基团的物质。如果含有或者不知道是否含有，最好用自选方法先将这些干扰物质去除，去除过程不能破坏 L-甲硫氨酸的稳定性。如果无法去除，则

需要采用专一性更高的酶联法进行测定。

三、标曲的制备

3. 首次测量时必须制作标准曲线，下面以 6 个稀释度的标准曲线为例。
4. 标记 1-6 个 1.5 mL 离心管，每个管中加入 0.7 mL 超纯水。
5. 在 1 号管中加入 0.7 mL 在第 1 步制备的 1 mM 标准品母液，充分震荡 1 分钟，得 500 μM 稀释液。放冰上待用。
6. 换枪头，在 2 号管中加入 0.7 mL 500 μM 稀释液（上步稀释所得），充分震荡 1 分钟，得 250 μM 稀释液。放冰上待用。
7. 重复上面的操作直到得到 500 μM、250 μM、125 μM、62.5 μM、31.3 μM 和 15.6 μM 的共 6 个稀释度的标曲液。放冰上待用。
8. 将分光光度计开机预热 30 分钟，期间设置反应如下：

成分	空白对照	6 个标曲管
超纯水	100 μL	不加
6 个标曲样本	不加	各 100 μL
测定反应液	600 μL	各 600 μL
测定底物液	50 μL	各 50 μL

9. 混匀后常温放置 30 分钟。
10. 加入 250 μL L-甲硫氨酸测定显色液，常温放置 5 分钟，检测 513 nm 吸光度（以下简称 A 值），每个样本测定三次。测前用超纯水调零。
11. 数据处理：计算 1-6 号每个样本的平均 A 值，然后用每个样本的 A 值减去空白对照的 A 值即得 6 个样本的真实 A 值。
12. 绘制标曲：以标曲液浓度（μM）为横轴，以 A 值为纵轴，绘制标准曲线并得到线性回归方程式 C = aA + b，C 为标曲液浓度，A 为 A 值。
13. 此公式可在后续测试中反复使用，但在后续实验时必须设置 1 个质检点标曲液随待测样本一起测试。质控点标曲液的制备同上，其浓度必须在上步所得标曲的线性范围内，最好异于制备标曲所用的 6 个浓度。如果质控点的测试结果代入上步回归方程式得到的计算浓度跟其配制浓度相差在 10%以内，则可将同组的待测样本 A 值代入公式直接计算其对应的 C 值。如果相差大于 10%，则不能用此方程式，需同步制备新的标曲，得到新的回归方程式，再用其计算待测样本的 C 值。

四、测定待测样本

14. 假设有 N 个样本，每个样本做一次重复，则标记 N + 2 个 1.5 mL 离心管，

其中 N 个用于待测样本，多出的 2 个 1 各用做质检点，另外一个用做空白对照。

15. 按下表在各管中加入各成分。根据分光光度计一次可以同时测定的样本数决定每次加几个样本：

成分	N 个样本管	空白对照	质检点
待测样本	各 100 μL	不加	不加
超纯水	不加	100 μL	不加
质检点样本	不加	不加	100 μL
测定反应液	各 600 μL	600 μL	600 μL
测定底物液	各 50 μL	50 μL	50 μL

16. 混匀后常温放置 30 分钟。
17. 加入 250 μL L-甲硫氨酸测定显色液，常温放置 5 分钟，检测 513 nm 吸光度（以下简称 A 值），每个样本测定三次。测前用超纯水调零。

五、数据处理

18. 计算真实 A 值，真实 A 值 = 样本 A 值 - 空白对照 A 值。
19. 将质检点 A 值代入到第 12 步公式，计算出其浓度，如果跟配置浓度误差小于 10%，则将样本 A 值代入到此公式中计算其对应的浓度。如果大于 10%，则需要在测定待测样本的同时，同步制备标曲，然后用此标曲进行计算。

六、多孔板酶标仪检测

20. 同上，只是所有反应体系按比例缩小 5 倍(从 1 mL 终体积缩小到 200 μL)，每个成份的用量也缩小 5 倍（待测样本、测定反应液、测定底物液和测定显色液分别从 100 μL、600 μL、50 μL 和 250 μL 缩小到 20 μL、120 μL、10 μL 和 50 μL）。

关联产品	L-甲硫氨酸含量测定试剂盒（酶联法）