

Glutamic Acid Content Assay Kit

谷氨酸(Glu)含量测定试剂盒说明书

货号: BN72237 方法: 可见分光法| 规格: 48 样

一、产品简介:

谷氨酸广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中,不仅是组成蛋白质的 20 种氨基酸之一,也是细胞代谢中的关键分子。此外,谷氨酸不仅是哺乳动物神经系统中最丰富的快速兴奋性神经递质;也存在于多种食品中,并已用作食品工业中的增味剂。

本试剂盒提供一种快速、灵敏的检测谷氨酸的方法,利用谷氨酸脱氢酶特异作用于底物谷氨酸,同时使生成的物质进一步与显色剂生成黄色物质,该黄色物质在 450nm 处有最大吸收峰,进而得出谷氨酸的含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体×1 支	4℃保存	用前甩几下使试剂落入试管底部,避免试剂浪费。
试剂二	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉体 mg×2 支	-20℃保存	用前甩几下使试剂落入底部,每支再加 0.65mL 蒸馏水溶解,可-20℃分装冻存。
试剂四	液体 2mL×1 瓶	4℃保存	用前甩几下使试剂落入试管底部,避免试剂浪费。
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰、蒸馏水。

四、谷氨酸(Glu)含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品和实验流程,避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- ① 组织样本: 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 EP 管中,再加入 1μL 的试剂一,混匀并孵育 5min; 12000rpm,离心 10min,上清液待测。
- ② 高蛋白含量样本: 取 0.1g 组织样本,加适量高氯酸(1M)研磨样本,再用 KOH(5M)调溶液 PH 值至约 8,两次液体体积记为 V2,再加入 1μL 的试剂一,混匀并孵育 5min;粗提液全部转移到 EP 管中。4600rpm 离心 10min,上清液待测。
- ③ 细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约 500 万细菌或细胞加入 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); 12000rpm 4℃离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

- ④ 液体样品: 近似中性的液体样品可直接取 1mL 转移到 EP 管中,再加入 1μL 的试剂一,混匀并孵育 5min; 12000rpm,离心 10min,上清液待测。

酸性液体样本(如葡萄酒或果汁),则需先用 2 M NaOH 调溶液的 PH 值至约 8.6,并在室温下孵育 30 分钟。取 1mL 转移到 EP 管中,再加入 1μL 的试剂一,混匀且孵育 5min; 12000rpm,离心 10min,上清液待测。

2、上机检测:

- ① 可见分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 450nm,蒸馏水调零。

- ② 所有试剂可于 25℃水浴锅中孵育 15min 左右，再于 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

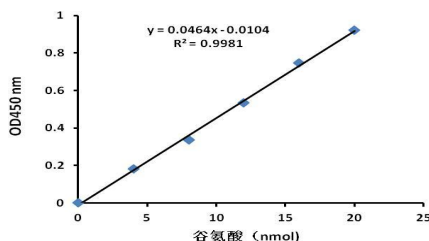
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
提取液	530	550
试剂二	80	80
试剂三	20	
样本	50	50
试剂四	20	20
混匀，30℃（恒温培养箱）避光反应 20min（若反应未终止即吸光值还在上升，须延长反应时间至吸光值不变），于 450nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本需设置一个对照）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；

针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

- 1、标准曲线方程为 $y = 0.0464x - 0.0104$ ；x 为谷氨酸含量 (nmol)，y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

- 2、按照样本质量计算：

$$\text{谷氨酸}(\text{nmol/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0104) \div 0.0464] \div (W \times V1 \div V) \times D = 431 \times (\Delta A + 0.0104) \div W \times D$$

$$\text{谷氨酸}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0104) \div 0.0464] \div (W \times V1 \div V) \times Mr \times 10^{-3} \times D = 63.42 \times (\Delta A + 0.0104) \div W \times D$$

- 3、按照样本质量计算（高蛋白含量样本）：

$$\text{谷氨酸}(\text{nmol/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0104) \div 0.0464] \div (W \times V1 \div V2) \times D = 431 \times (\Delta A + 0.0104) \div W \times V2 \times D$$

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸}(\mu\text{g/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0104) \div 0.0464] \div (W \times V1 \div V2) \times Mr \times 10^{-3} \times D \\ &= 63.42 \times (\Delta A + 0.0104) \div W \times V2 \times D \end{aligned}$$

- 4、按细胞数量计算：

$$\text{谷氨酸}(\text{nmol}/10^4\text{cell}) = [(\Delta A + 0.0104) \div 0.0464] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 431 \times (\Delta A + 0.0104) \div 500 \times D$$

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸}(\mu\text{g}/10^4\text{cell}) &= [(\Delta A + 0.0104) \div 0.0464] \div (500 \times V1 \div V) \times Mr \times 10^{-3} \times D \\ &= 63.42 \times (\Delta A + 0.0104) \div 500 \times D \end{aligned}$$

- 5、按照液体体积计算：

$$\text{谷氨酸}(\text{nmol/mL}) = [(\Delta A + 0.0104) \div 0.0464] \div (V1 \div V3) \times D = 431 \times (\Delta A + 0.0104) \times D$$

$$\text{谷氨酸}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A + 0.0104) \div 0.0464] \div (V1 \div V3) \times Mr \times 10^{-3} \times D = 63.42 \times (\Delta A + 0.0104) \times D$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入反应体系中样本体积，0.05mL；

V2---高蛋白含量样本的总提取液体积； V3---所取液体的体积，1 mL； D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样本质量，g； 500---细胞数量，万； 谷氨酸分子量 Mr---147.13。