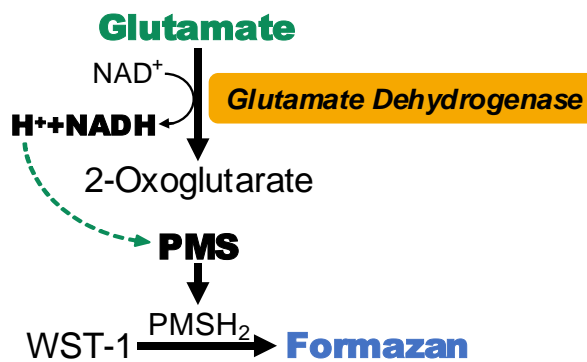




谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒
Glutamic Acid (Glu) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒

Glutamic Acid (Glu) Content Assay Kit

一、产品描述

谷氨酸 (Glu) 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，还可以通过转氨基作用参与多种氨基酸合成，是生物体内主要氨基来源之一，并且在食品添加剂以及香料等领域具有重要应用。

谷氨酸脱氢酶 (GDH) 能够催化谷氨酸和 NAD 生成 α -酮戊二酸、NADH 和 NH_4^+ ，NADH 可通过 PMS 的递氢作用，还原 WST-1 生成甲贍 (Formazan)，产物在 450 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测谷氨酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 90 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	-20°C 避光保存	使用前每瓶加入 6 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂三	液体 1.5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	粉剂×2 支	-20°C 避光保存	使用前每支加入 500 μL 试剂三充分溶解 (分装后-20°C可保存两周，避免反复冻融)
试剂五	液体 5 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
标准液	液体 500 μL ×1 支	4°C 避光保存	10 $\mu\text{mol/mL}$ 谷氨酸标准液
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 10 $\mu\text{mol/mL}$ 谷氨酸标准液使用蒸馏水稀释至 0.64、0.32、0.16、0.08、0.04、0.02 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	10	1.0	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04
标准液体积 (μL)	100	640	200	200	200	200	200
蒸馏水体积 (μL)	900	360	200	200	200	200	200
稀释后浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	1.0	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样品处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：试剂一体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 1000 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2. 测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 450 nm。

②在 96 孔板中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
待测样本	40	40	-	-
标准稀释液	-	-	40	-
蒸馏水	-	-	-	40
试剂一	-	170	-	170
试剂二	160	-	160	-
试剂四	10	-	10	-
试剂五	30	30	30	30

充分混匀，37℃避光准确反应 30 min

吸光值测定：测定 450 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：每个样本均需设一个对照组，各浓度标准组和空白组只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.64、0.32、0.16、0.08、0.04、0.02 $\mu\text{mol/mL}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

3.谷氨酸 (Glu) 含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{样}}}{\text{Cpr} \times V_{\text{样}}} = \frac{x}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}}}{W \times V_{\text{样}}} = \frac{x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}}} = x$$

注释: V 样总: 待测样本总体积, 1 mL; V 样: 反应体系中加入待测样本的体积, 0.04 mL; Cpr: 待测样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 细菌或细胞数量: 以万计。

四、注意事项

①若 A 测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围: 高于最高值建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定; 低于最低值建议制备更高浓度样本后再进行测定, 计算时相应修改;

②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, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

