

Glutamic Acid(Glu) Content Assay Kit

谷氨酸(Glu)含量测定试剂盒(紫外法) 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1781A	谷氨酸(Glu)含量测定试剂盒(紫外法) 分光法	48T

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。

本试剂盒利用谷氨酸脱氢酶特异作用于底物谷氨酸，同时使 NAD^+ 转化为 NADH ，利用 NADH 在 340nm 的上升量计算得出谷氨酸含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉末×1 支	4℃保存	使用前甩几下使粉体落入底部，再加 1.2mL 蒸馏水溶解；溶解后-20℃保存。
试剂三	粉末×1 支	-20℃保存	使用前甩几下使粉体落入底部，再加 1.2mL 蒸馏水溶解，溶解后可-20℃分装保存。
标准品	粉末×1 支	4℃保存	仅用来鉴定试剂盒中试剂是否正常（不参与结果计算）。 使用方法：使用前标准管（Glu）甩几下使粉剂落入底部，再加 0.5mL 蒸馏水混匀溶解即浓度为 100μmol/mL，再稀释 100 倍成 1μmol/mL 的 Glu 后备用；按照加样表中测定管操作（样本更换成备用浓度标准品）。

使用方法:

一、样本准备

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织(水分充足的样本可取约 0.5g)，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆；
- 12000rpm，室温离心 10min，取上清液待测。（若组织样本蛋白含量很高，可进行脱蛋白处理）。

【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:

- 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 取 5×10^6 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）；
- 12000rpm 4℃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:

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。



近似中性的澄清液体样本可直接检测；若为酸性样本则需先用 NaOH(2M)调 PH 值约 7.4，然后室温静置 30min，取澄清液体直接检测。

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. 试剂解冻至室温（25℃），或可放在 25℃条件下水浴 5-15min。
3. 试剂一和二可按照 600:20 比例配成混合液（一枪加 620μL 该混合液）（该混合液用多少配多少，现配现用）。
4. 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
试剂一	600
试剂二	20
样本	80
30℃孵育 5min，看是否增长，读取 A1	
试剂三	20
混匀，30℃孵育 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 340nm 读取 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

- 【注】：1.若 ΔA 小于 0.01，可以增加样本量 V1（如由 80μL 增至 150μL，则试剂一相应减少，总体积不变）或增加样本取样质量 W 和细胞数量，则改变后的 V1 或 W 或细胞数量需代入计算公式重新计算。
- 2.若 A1 值超过 1.6，可减少样本加样量 V1（如由 80μL 减至 40μL，则试剂一相应增加，总体积不变），则改变后的 V1 需代入计算公式重新计算。

三、结果计算

1. 按照样品质量计算：

$$\text{谷氨酸 (Glu) 含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) = 210.2 \times \Delta A \div W$$

2. 按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸 (Glu) 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (\text{细胞数量} \times V1 \div V) \\ &= 210.2 \times \Delta A \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

3. 按照液体体积计算：

$$\text{谷氨酸 (Glu) 含量}(\mu\text{g/mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div V1 = 210.2 \times \Delta A$$

ϵ ---NADH 摩尔消光系数， $6.3 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ V---加入提取液体积，1 mL
V1---加入反应体系中样本体积，0.08mL d---光径，1cm
V2---反应总体积， $7.2 \times 10^{-4} \text{ L}$ W---样本质量，g
Mr---谷氨酸分子量，147.13 细胞数量---万

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℃保存三个月。

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。

