

Glutamine (Gln) Content Assay Kit

谷氨酰胺(Gln)含量测定试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1411A	谷氨酰胺(Gln)含量测定试剂盒 分光法	24T

产品简介:

谷氨酰胺(Gln)是一种含量较丰富的氨基酸,它是通过谷氨酸和氨的缩合反应生成的,是一种非必需氨基酸;其在蛋白质合成,酸碱平衡,合成代谢过程中起重要作用。

本试剂盒提供一种快速、灵敏的检测谷氨酸的方法,利用谷氨酰胺酶使谷氨酰胺生成谷氨酸,再通过谷氨酸脱氢酶特异作用于谷氨酸,同时使生成的物质进一步与显色剂反应生成黄色物质,该黄色物质在450nm处有最大吸收峰,进而得出谷氨酰胺(Gln)的含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	30mL×1瓶	4°C保存	
试剂一	液体×1支	-20°C保存	使用前甩几下或4°C离心使液体落入试管底部,再加入1mL蒸馏水混匀,可-20°C分装保存。
试剂二	1mL×1瓶	4°C保存	
试剂三	7mL×1瓶	4°C保存	
试剂四	粉末×1支	-20°C保存	使用前甩几下或4°C离心使试剂落入试管底部,再加1.8mL蒸馏水溶解,仍-20°C保存。
试剂五	粉末×1支	-20°C保存	使用前甩几下或4°C离心使试剂落入试管底部,再加1.2mL蒸馏水溶解,仍-20°C保存。
试剂六	1mL×1支	4°C保存	
试剂七	30mL×1瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

使用方法:

建议正式实验前,选取2个样本做预测定,了解实验样品情况,熟悉流程,避免样本和试剂浪费。

一、样本准备:

1. 组织样本:

(a) 取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,粗提液全部转移到离心管中;

(b) 12000rpm 4°C离心10min后取上清,置于冰上待测。

【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:

(a) 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;

(b) 取约 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,200W,超声3s,间隔10s,重复30次);

(c) 12000rpm 4°C离心10min后取上清,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. 液体样品:

澄清的液体样本直接检测,若浑浊则12000rpm,离心10min取上清液待测。

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。



二、样品测定:

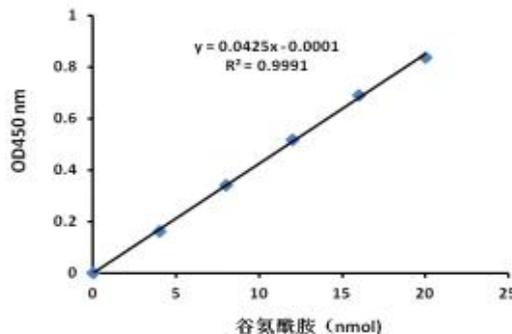
1. 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 450nm, 蒸馏水调零。
2. 所有试剂解冻至室温 (25°C)。
3. 试剂四、五、六和七可按照 30:20:30:500 比例配成混合液(一枪加 570mL 该混合液)(该混合液用多少配多少, 现配现用)。
4. 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	50	50
试剂一	30	-
试剂二	-	30
试剂三	80	80
混匀, 于 37°C 孵育 30min		
试剂四	30	30
试剂五	20	20
试剂六	20	20
试剂七	500	500
混匀, 37°C (恒温培养箱) 避光反应 30min (2min 内值不变, 否则需延长反应时间), 全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 于 450nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A$ 测定 - A 对照 (每个样本需设置一个对照)。		

- 【注】1. 若 A 值都大于 0.8 或样本含量有高背景值即谷氨酸含量高, 可对样本用蒸馏水进行稀释, 则稀释倍数 D 须代入公式计算。
2. ΔA 低于 0.01, 则增加样本加样量 V1 (如由 50μL 增至 100μL, 则试剂二相应减少), 则改变后的 V1 则代入公式重新计算。

三、含量计算

1. 标准曲线方程: $y = 0.0425x - 0.0001$, x 为谷氨酸含量 (nmol), y 是 ΔA 。



2. 按照样本质量计算:

$$\text{谷氨酸(Gln)(nmol/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0001) \div 0.0425] \div (W \times V1 \div V) = 470.6 \times (\Delta A + 0.0001) \div W \times D$$

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸(Gln)(}\mu\text{g/g 鲜重)} &= [(\Delta A + 0.0001) \div 0.0425] \div (W \times V1 \div V) \times Mr \times 10^{-3} \\ &= 68.8 \times (\Delta A + 0.0001) \div W \times D \end{aligned}$$

3. 按细菌或细胞数量计算:

$$\text{谷氨酸(Gln)(nmol/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A + 0.0001) \div 0.0425] \div (500 \times V1 \div V) = 0.941 \times (\Delta A + 0.0001) \times D$$

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸(Gln)(}\mu\text{g/10}^4 \text{ cell)} &= [(\Delta A + 0.0001) \div 0.0425] \div (500 \times V1 \div V) \times Mr \times 10^{-3} \\ &= 0.14 \times (\Delta A + 0.0001) \times D \end{aligned}$$

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。





4. 按照液体体积计算:

$$\text{谷氨酰胺(Gln)}(\text{nmol/mL})=[(\Delta A+0.0001)\div 0.0425]\div V1=470.6\times(\Delta A+0.0001)\times D$$

$$\text{谷氨酰胺(Gln)}(\mu\text{g/mL})=[(\Delta A+0.0001)\div 0.0425]\div V1\times Mr\times 10^{-3}=68.8\times(\Delta A+0.0001)\times D$$

V---加入提取液体积, 1 mL

W---样品质量, g

500---细胞或细菌总数, 万

V1---加入样本体积, 0.05mL

谷氨酰胺分子量 Mr---146.146

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

附: 标准曲线制作过程:

1. 制备标准品母液 (100nmol/ μ L): 标准品用 1mL 的蒸馏水溶解。(母液需在两天内用且-20 $^{\circ}$ C 保存)。
2. 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 0.08, 0.16, 0.24, 0.32, 0.4. nmol/ μ L。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据测定管加样表操作, 根据结果即可制作标准曲线。

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 $^{\circ}$ C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。

电话: 400-600-4213

邮箱: techserv@labgic.com

