

Glutamine (Gln) Content Assay Kit

谷氨酰胺(Gln)含量测定试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1411B	谷氨酰胺(Gln)含量测定试剂盒 微板法	48T

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	60mL×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 0.3mL 蒸馏水混匀，可-20°C分装保存。
试剂二	0.5mL×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 1.2mL 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 1.1mL 蒸馏水溶解，仍-20°C保存。
试剂六	1mL×1 支	4°C保存	
试剂七	10mL×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:

- 称取约 0.1g 组织（水分充足的样本建议取 0.5g 左右），加入 1mL 提取液研磨，粗提液全部转移到离心管中；
- 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:

- 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 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）；
- 12000rpm 4°C离心 10min 后取上清，置冰上待测。

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。



【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. 血清（浆）样本：

直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

二、样品测定：

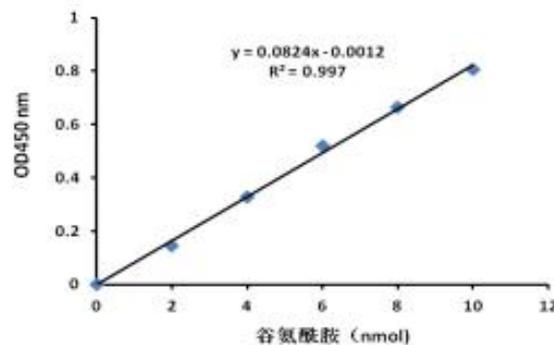
1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm。
2. 所有试剂解冻至室温(25°C)，或可放在 25°C 条件下水浴 5-15min。
3. 试剂四、五、六和七可按照 10:10:10:100 比例配成混合液(一枪加 130mL 该混合液)(该混合液用多少配多少，现配现用)。
4. 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	20	20
试剂一	5	-
试剂二	-	5
试剂三	45	45
混匀，于 37°C 孵育 30min		
试剂四	10	10
试剂五	10	10
试剂六	10	10
试剂七	100	100
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），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】 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 20μL 增至 50μL，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： $y = 0.0824x - 0.0012$ ，x 为谷氨酸含量 (nmol)，y 是 ΔA 。



2. 按照样本质量计算：

$$\text{谷氨酸(Gln)(nmol/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0824] \div (W \times V1 \div V) = 606.8 \times (\Delta A + 0.0012) \div W \times D$$

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸(Gln)(}\mu\text{g/g 鲜重)} &= [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0824] \div (W \times V1 \div V) \times Mr \times 10^{-3} \\ &= 88.68 \times (\Delta A + 0.0012) \div W \times D \end{aligned}$$

3. 按细菌或细胞数量计算：

$$\text{谷氨酸(Gln)(nmol/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0824] \div (500 \times V1 \div V) = 1.214 \times (\Delta A + 0.0012) \times D$$

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸(Gln)(}\mu\text{g/10}^4 \text{ cell)} &= [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0824] \div (500 \times V1 \div V) \times Mr \times 10^{-3} \\ &= 0.18 \times (\Delta A + 0.0012) \times D \end{aligned}$$

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:

$$\text{谷氨酰胺(Gln)}(\text{nmol/mL})=[(\Delta A+0.0012)\div 0.0824]\div V1=606.8\times(\Delta A+0.0012)\times D$$

$$\text{谷氨酰胺(Gln)}(\mu\text{g/mL})=[(\Delta A+0.0012)\div 0.0824]\div V1\times Mr\times 10^{-3}=88.68\times(\Delta A+0.0012)\times D$$

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, 0.02mL

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): 加 1mL 蒸馏水溶解标准品, 充分混匀。(母液需在两天内用且-20 $^{\circ}$ C保存)。
2. 把母液稀释成以下浓度: 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 nmol/ μ L。也可根据实际来调整浓度。
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

