

谷氨酸 (GLu) 含量检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0327	谷氨酸 (GLu) 含量检测试剂盒 (微量法)	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 120mL × 1 瓶	4℃
试剂二	粉剂 × 1 瓶: 临用前加入 5mL 蒸馏水充分溶解混匀, 用不完的试剂仍 4℃ 保存。	4℃

一、产品说明

谷氨酸(glutamic acid, 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, 而且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酸来源之一。此外, GLu 还是味精的主要有效成分, 常用做食品添加剂以及香料生产。

GLu 含量检测试剂盒利用专用提取液提取, 然后用显色剂进行显色, 显色后在 570nm 下进行测定。

二、自备材料

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰、蒸馏水。

三、样品准备

1、组织: 按照组织质量 (g): 试剂一体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆。8000g 常温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2、细胞/细菌: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (104 个): 试剂一体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 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 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 常温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

3、血浆/血清: 按照血清 (浆) 或细胞培养液体积 (mL): 试剂一体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议取 0.1mL 血清 (浆) 或者细胞培养液加入 1mL 试剂一), 进行冰浴匀浆。8000g 常温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 570nm, 蒸馏水调零。

2、按照下表在 EP 管中进行操作:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	250	
试剂一		250
试剂二	50	50

混匀, 90°C 水浴 20min (盖紧, 以防止水分散失), 流水冷却, 取 200 μ L 至微量石英比色皿或 96 孔板中, 于 570nm 波长处记录吸光值 A。 $\Delta A=A$ 测定管-A 对照管。对照管只做一管。

五、含量的计算

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下:

标准条件下测定回归方程为 $y = 0.0037x - 0.5255$; x 为谷氨酸含量 ($\mu\text{g/mL}$), y 为吸光值。

1、按照组织蛋白浓度计算

$$\text{Glu 含量}(\mu\text{g/mg prot})=[(\Delta A + 0.5255) \div 0.0164 \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) = 270.3 \times (\Delta A + 0.5255) \div \text{Cpr}.$$

需要另外测定蛋白浓度, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

2、按照样本鲜重计算

$$\text{Glu 含量}(\mu\text{g/g 鲜重})=[(\Delta A + 0.5255) \div 0.0164 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 270.3 \times (\Delta A + 0.5255) \div W.$$

3、按照细菌/细胞密度计算

$$\text{Glu 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ ceLL})=[(\Delta A + 0.5255) \div 0.0164 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) = 0.541 \times (\Delta A + 0.5255).$$

4、按照血清/血浆体积计算

$$\text{谷氨酸含量}(\mu\text{g/mL})=[(\Delta A + 0.5255) \div 0.0037 \times V1] \div (V3 \times V1 \div V2) = 2703 \times (\Delta A + 0.5255).$$

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.25mL; V2: 加入提取液体积, 1 mL; V3: 加入血清 (浆) 或细胞培养液体积, 0.1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

B. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下:

标准条件下测定回归方程为 $y = 0.0074x - 0.5255$; x 为谷氨酸含量 ($\mu\text{g/mL}$), y 为吸光值。

1、按照组织蛋白浓度计算

$$\text{Glu 含量}(\mu\text{g/mg prot})=[(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) = 135.1 \times (\Delta A + 0.5255) \div \text{Cpr}.$$

需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

2、按照样本鲜重计算

$$\text{Glu 含量}(\mu\text{g/g 鲜重})=[(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 135.1 \times (\Delta A + 0.5255) \div W.$$

3、按照细菌/细胞密度计算

$$\text{Glu 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ ceLL})=[(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) = 0.27 \times (\Delta A + 0.5255).$$

4、按照血清/血浆体积计算

$$\text{谷氨酸含量}(\mu\text{g/mL})=[(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (V3 \times V1 \div V2) = 1351 \times (\Delta A + 0.5255).$$

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.25mL; V2: 加入提取液体积, 1 mL; V3: 加入血清 (浆) 或细胞培养液体积, 0.1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

六、注意事项

- 1、本试剂盒仅适用于于发酵液或组织中谷氨酸含量测定, 检测下限为 100 $\mu\text{g/mL}$ 。
- 2、标准曲线线性范围为: 100 $\mu\text{g/mL}$ -600 $\mu\text{g/mL}$ 。
- 3、 ΔA 线性范围为: 0.01-1; 若大于 1 则需要将上清液用试剂一稀释至适当倍数后测定, 计算公式中乘以相应稀释倍数。