

谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒 (微量法)

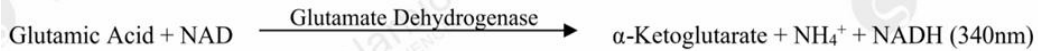
产品货号: BA1126

产品规格: 100管/96样

产品简介:

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。

谷氨酸脱氢酶(GDH)催化谷氨酸和NAD生成 α -酮戊二酸、NADH和 NH_4^+ ,引起340nm处吸光度的上升,通过测定340nm吸光度的变化,计算谷氨酸含量。



技术指标:

最低检出限: $0.037\mu\text{mol/mL}$

线性范围: $0.05\text{-}0.8\mu\text{mol/mL}$

注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体125mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体3mL×1瓶	2-8°C
试剂三	粉剂×1瓶	-20°C
试剂四	粉剂×1瓶	-20°C
试剂五	粉剂×1支	-20°C
标准品	液体1mL×1支	2-8°C

溶液的配制:

1. 试剂三: 临用前加入20mL试剂一充分溶解。未用完的试剂-20°C分装保存4周,避免反复冻融。
2. 试剂四: 临用前加入2mL试剂二充分溶解。未用完的试剂-20°C分装保存4周,避免反复冻融。
3. 试剂五: 临用前加入1.5mL试剂四充分溶解。未用完的试剂-20°C分装保存4周,避免反复冻融。
4. 标准品: $10\mu\text{mol/mL}$ 谷氨酸标准品。

需自备的仪器和用品:

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔UV板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤:

样本处理(可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

1. 细胞/细菌按照细胞数量(10^6 个): 试剂一体积(mL)为5~1:1的比例(建议5百万细胞/细菌加入1mL试剂一),冰浴超声波破碎细胞/细菌(功率200w,超声3秒,间隔10秒,总时间3min); 10000rpm, 4°C离心10min,取上清置冰上待测。
2. 组织: 按照质量(g): 试剂一体积(mL)为1:5~10的比例(建议称取约0.1g,加入1mL试剂一)加入试剂一,冰浴匀浆后, 10000rpm, 4°C离心10min,取上清置冰上待测。
3. 血清等液体: 取0.5mL液体样本加入0.5mL试剂一充分震荡混匀, 10000rpm, 4°C离心10min,取上清置冰上待测。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 临用前根据样本量取部分试剂三置于37°C预热5min以上。
3. 标准品的稀释：将10 μ mol/mL谷氨酸标准品用蒸馏水分别稀释为0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 μ mol/mL的标准品备用。
4. 标准品稀释表：

序号	稀释前浓度 (μ mol/mL)	标准品体积 (μ L)	蒸馏水体积 (μ L)	稀释后浓度 (μ mol/mL)
1	10	200	800	2
2	2	500	500	1
3	1	500	125	0.8
4	0.8	300	300	0.4
5	0.4	300	300	0.2
6	0.2	300	300	0.1
7	0.1	300	300	0.05

备注：下述实验中每个标准管需40 μ L标准品(注意不要在此步骤直接检测标准品吸光度)。

5. 样本测定(在微量石英比色皿/96孔UV板中加入下列试剂)：

试剂名称 (μ L)	测定管	标准管	空白管
样本	40	-	-
标准品	-	40	-
蒸馏水	-	-	40
试剂三	160	160	160
充分混匀，测定340nm下吸光度A1，分别记为A1测定、A1标准和A1空白			
试剂五	10	10	10
充分混匀，然后迅速置于37°C准确反应30min，立即测定30min10s时的吸光度A2，分别记为A2测定、A2标准、A2空白。计算AA标准=(A2标准-A1标准)-(A2空白-A1空白)，AA测定=(A2测定-A1测定)-(A2空白-A1空白)。标准曲线和空白管只需测1-2次。			

三、谷氨酸含量计算：

1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度(x, μ mol/mL)和吸光度 ΔA 标准(y, ΔA 标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定(y, ΔA 测定)带入公式计算样本浓度(x, μ mol/mL)。

2. 谷氨酸(Glu)含量计算：

- (1) 按照蛋白浓度计算：Glu含量(μ mol/mg prot)= $x \times V_{\text{样本}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \times F = x \div C_{\text{pr}} \times F$
- (2) 按照样本质量计算：Glu含量(μ mol/g 质量)= $x \times V_{\text{样本}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \times F = x \div W \times F$
- (3) 按照细菌或细胞数量计算：Glu含量(μ mol/ 10^6 cell)= $x \times V_{\text{样本}} \div (N \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \times F = x \div N \times F$
- (4) 按照液体样本体积计算：Glu含量(μ mol/mL)= $x \times 2 \times F = 2x \times F$

V提取：前处理加入试剂一的体积，1mL；V样本：加入的样本体积，0.04mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细菌或细胞总数，以 10^6 计；2：液体样本前处理的稀释倍数，(0.5mL液体样本+0.5mL试剂一) \div 0.5mL液体样本=2；F：样本稀释倍数。

注意事项：

如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者用蒸馏水稀释样本后再进行测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com