

## 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:

/ HH <== /*/			
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	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	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: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:
- (a) 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;
- (b) 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:
- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;
- (b) 取 5×10<sup>6</sup> 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);
- (c) 12000rpm 4℃离心 10min,取上清,置冰上待测。 【注】: 若增加样本量,按照每 0.5~1×10<sup>7</sup>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°C),或可放在25°C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:

	- COLIZ TOMO     NOCORPO CO				
	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, △A=A2-A1。

【注】: 1.若△A 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:

谷氨酸 (Glu) 含量( $\mu$ g/g 鲜重)=[ $\Delta$ A÷( $\epsilon$ ×d)×V2×Mr×10<sup>6</sup>]÷(W×V1÷V)=210.2× $\Delta$ A÷W

2. 按细胞数量计算:

谷氨酸(Glu)含量( $\mu$ g/ $10^4$  cell)=[ $\Delta$ A÷( $\epsilon$ ×d)×V2×Mr× $10^6$ ]÷(细胞数量×V1÷V) =210.2× $\Delta$ A÷细胞数量

3. 按照液体体积计算:

谷氨酸 (Glu) 含量( $\mu$ g/mL)=[ $\Delta$ A÷( $\epsilon$ ×d)×V2×Mr×10<sup>6</sup>]÷V1=210.2× $\Delta$ A

ε---NADH 摩尔消光系数, 6.3×10<sup>3</sup> 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, 7.2×10<sup>-4</sup> 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℃保存六个月。

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。

