

谷氨酸(Glu)含量检测试剂盒说明书

Glutamic Acid Assay Kit

微量法

货号: AK074

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液 ES51	60ml × 1 瓶	4℃保存;
AK074-A	粉剂 × 1 支	4℃保存; 临用前加入 10mL 蒸馏水, 充分混匀溶解, 剩余试剂需 4℃保存;
AK074-标准品	粉剂 × 1 支	4℃保存; 临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解配制成 12.5μmol/mL 的标准溶液。

简介:

意义: 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。

原理: 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。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、微量玻璃比色皿/96 孔板、水浴锅、可调式移液枪、研钵、冰和双蒸水。

谷氨酸提取:

1. 组织样品: 按照组织质量 (g): 提取液 ES51 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 ES51), 进行冰浴匀浆。8000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 血清 (浆) 或细胞培养液样品: 按照血清 (浆) 或细胞培养液体积 (mL): 提取液 ES51 体积 (mL) 为 1: 1 的比例 (建议取 0.5mL 血清 (浆) 或者细胞培养液加入 0.5mL 提取液 ES51), 进行冰浴匀浆。8000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定操作:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 570nm。
2. 将 12.5 μmol/mL 的标准液用蒸馏水稀释为 1.25 μmol/mL 的标准溶液备用。
3. 在 EP 管中按表加入下列试剂:

试剂名称	测定管 (ul)	对照管 (ul)	标准管 (ul)	空白管 (ul)
样本	1000			
标准溶液			1000	
蒸馏水				1000
提取液 ES51		1000		
AK074-A	200	200	200	200
混匀, 90℃水浴 20min (盖紧, 以防止水分散失), 流水冷却, 取 1ml 至比色皿中, 于 570nm 波长处记录吸光值 A, 分别记为 A 对照管、A 测定管、A 空白管和 A 标准管。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$, $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ (空白、标准管和对照管各只需检测 1-2 次)。				

谷氨酸含量计算：

1. 按蛋白浓度计算：

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{mol/g prot}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F = 1.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F$$

2. 按样本质量计算：

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \div W \times F = 1.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F$$

3. 按液体体积计算：

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}} \times 2 \times F = 2.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$$

C 标准：标准管浓度，1.25 $\mu\text{mol/mL}$ ；W：样本质量，g；F：样本稀释倍数；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；2：液体样本前处理的稀释倍数。

注意事项：

为提高检测灵敏度，测定管的吸光值应小于 1，若大于 1 则需要将上清液用提取液 ES51 稀释至适当倍数后测定，计算公式中乘以相应稀释倍数。