

谷氨酸(Glu)含量检测试剂盒说明书

Glutamic Acid Assay Kit

微量法

货号: AK075

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

| 编号 | 规格 | 储存条件 |
|-----------|-----------|--|
| 提取液 ES51 | 110ml×1 瓶 | 4°C保存； |
| AK075-A | 粉剂×1 支 | 4°C保存；临用前加入 5mL 蒸馏水，充分混匀溶解，剩余试剂需 4°C保存； |
| AK075-标准品 | 粉剂×1 支 | 4°C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:

- 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°C离心 10min, 取上清，置冰上待测。
- 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°C离心 10min, 取上清，置冰上待测。

测定操作:

- 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 570nm。
- 将 12.5 μmol/mL 的标准液用蒸馏水稀释为 5 μmol/mL 的标准溶液备用。
- 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 | 250 | | | |
| 标准溶液 | | | 250 | |
| 蒸馏水 | | | | 250 |
| 提取液 ES51 | | 250 | | |
| AK075-A | 50 | 50 | 50 | 50 |

混匀，90°C水浴 20min (盖紧，以防止水分散失)，流水冷却，取 200uL 至微量玻璃比色皿或 96 孔板中，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 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管， ΔA 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：

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{mol/g prot}) = \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标准} \div C_{pr} \times F = 5 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div C_{pr} \times F$$

2. 按样本质量计算：

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) = \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标准} \div W \times F = 5 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W \times F$$

3. 按液体体积计算：

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{mol /mL}) = \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标准} \times 2 \times F = 10 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times F$$

C 标准：标准管浓度，5 $\mu\text{mol/mL}$ ；W：样本质量，g；F：稀释倍数；C_{pr}：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。