

## 谷氨酸（Glu）含量比色法检测试剂盒

货号: K150

规格: 50T/48S

### 试剂盒组件:

成份	数量	使用方法	储存方式
标准品	1 mL×1 支	10 μmol/mL 谷氨酸标准品	2-8℃ 保存 3 个月
试剂一	120mL×1 瓶		2-8℃ 保存 3 个月
试剂二	5mL×1 瓶		2-8℃ 保存 3 个月
试剂三	粉剂×1 瓶	使用前加入 55mL 试剂一	-20℃ 保存 3 个月
试剂四	粉剂×1 瓶	使用前加入 4mL 试剂二	-20℃ 保存 3 个月
试剂五	粉剂×1 瓶	使用前加入 3.5mL 试剂四	-20℃ 保存 3 个月

### 需自备试剂和器材:

紫外分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1 mL 石英比色皿、研钵/匀浆器、冰、蒸馏水。

### 检测原理:

谷氨酸（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 $\alpha$ -酮戊二酸、NADH 和  $\text{NH}_4^+$ ，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。

### 用途:

本试剂盒适用于检测血清、血浆、动物组织、细胞及细胞上清中谷氨酸的含量。

### 检测步骤 (仅供参考):

#### 1. 样本处理:

- 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 1 mL 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）；10000 rpm，4℃ 离心 10min，取上清置冰上待测。
- 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℃ 离心 10min，取上清置冰上待测。

c. 血清等液体：取 0.5mL 液体样本加入 0.5 mL 试剂一充分震荡混匀，10000rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

## 2. 准备工作：

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

a. 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。

b. 临用前根据样本量取部分试剂三置于 37℃ 预热 5min 以上。

c. 标准品的稀释：将 10 μmol/mL 谷氨酸标准品用蒸馏水分别稀释为 0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05μmol/mL 的标准品备用。

## 3. 按操作表依次加入各试剂

试剂名称 (μL)	测定管	标准管	空白管
样本	200	-	-
标准品	-	200	-
蒸馏水	-	-	200
试剂三	800	800	800
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	50	50	50
充分混匀，然后迅速置于 37℃ 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 $\Delta A_{标准} = A2_{标准} - A1_{标准}$ ， $\Delta A_{测定} = A2_{测定} - A1_{测定}$ 。标准曲线和空白管只需测 1-2 次。			

## 4. 结果计算

a. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 (x, μmol/mL) 和吸光度  $\Delta A_{标准}$  (y,  $\Delta A_{标准}$ )，建立标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A_{测定}$  (y,  $\Delta A_{测定}$ ) 带入公式计算样本浓度 (x, μmol/mL)。

b. 谷氨酸 (Glu) 含量计算：

$$(1) \text{ 按照蛋白浓度计算: Glu 含量 } (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = x \times V_{\text{样本}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样本}}) \times F = x \div \text{Cpr} \times F$$

$$(2) \text{ 按照样本质量计算: Glu 含量 } (\mu\text{mol}/\text{g 质量}) = x \times V_{\text{样本}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \times F = x \div W \times F$$

$$(3) \text{ 按照细菌或细胞数量计算: Glu 含量 } (\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = x \times V_{\text{样本}} \div (N \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \times F = x \div N \times F$$

$$(4) \text{ 按照液体样本体积计算: Glu 含量 } (\mu\text{mol}/\text{mL}) = x \times 2 \times F = 2x \times F$$

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，0.2mL；

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,  $(0.5\text{mL 液体样本} + 0.5\text{mL 试剂一}) \div 0.5\text{mL 液体样本} = 2$ ; F: 样本稀释倍数。

### 注意事项:

- 1、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稀释样本后再进行测定。
- 2、最低检出限:  $0.023 \mu\text{mol/mL}$
- 3、线性范围:  $0.05\text{-}0.8 \mu\text{mol/mL}$