



谷氨酸(Glu)含量试剂盒（紫外法）

紫外分光光度法

货号: R43904-48S

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。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体30mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉体mg×1支	4℃保存	临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	粉体mg×1支	-20℃保存	临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	粉体mg×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)。

所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿(光径1cm)、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰、蒸馏水。



谷氨酸 (Glu) 含量测定:

1、样本制备:

①组织样本:

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, 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5~10:1的比例进行提取。

②细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约500万细菌或细胞加入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);12000rpm 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】:若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液 (mL) 为500~1000:1的比例进行提取。

③液体样品: 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。

2、上机检测:

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℃),或可放在25℃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620 μ L 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:

试剂名称(μ L)	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, $\Delta A = A2 - A1$ 。

结果计算:

1、按照样品质量计算:

$$\text{谷氨酸 (Glu) 含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) \\ = 210.2 \times \Delta A \div W$$

2、按细胞数量计算:

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

2、按照液体体积计算:

$$\text{谷氨酸 (Glu) 含量}(\mu\text{g/mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div V1 \\ = 210.2 \times \Delta A$$

ϵ ---NADH 摩尔消光系数, $6.3 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$;

d---光径, 1cm;

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---加入反应体系中样本体积, 0.08mL;

V2---反应总体积, $7.2 \times 10^{-4} \text{ L}$;

Mr--- 谷氨酸分子量, 147.13;

W-- 样本质量, g;

细胞数量----万。