

谷氨酸(Glu)含量检测试剂盒说明书

(货号: PB1042W96 微量法 96 样)

有效期: 3 个月

测定意义:

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。

测定原理:

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。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰、蒸馏水。

试剂的组成和配制:

试剂一: 液体 100mL×1 瓶, 4℃保存;

试剂二: 粉剂×1 瓶, 4℃保存; 临用前每瓶加入 10mL 双蒸水, 用不完的试剂仍 4℃保存。

谷氨酸提取:

1、细菌或培养细胞样品: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清, 按照细菌或细胞 数量 (10^4 个): 试剂一体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 常温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2、组织样品: 按照组织质量 (g): 试剂一体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 试剂一), 进行冰浴匀浆。8000g 常温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

3、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): 试剂一体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议取 0.1mL 血清 (浆) 或者细胞培养液加入 1mL 试剂一), 进行冰浴匀浆。8000g 常温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 570nm, 蒸馏水调零。

2、在有盖 EP 管中加入下列试剂:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	250	
试剂一		250
试剂二	50	50

混匀, 90℃水浴 20min (盖紧, 以防止水分散失), 流水冷却, 取 200μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中, 于 570nm 波长处记录吸光值 A。ΔA=A 测定管-A 对照管。对照管只要做一管。

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 则需要将上清液用试剂一稀释至适当倍数后测定。

谷氨酸含量计算:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下



标准条件下测定回归方程为 $y = 0.0328x - 2.423$; x 为谷氨酸含量 ($\mu\text{g/mL}$), y 为吸光值。

1、按照蛋白浓度计算

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{g/mg prot}) = (\Delta A + 2.423) \div 0.0328 \div \text{Cpr} = 30.49 \times (\Delta A + 2.423) \div \text{Cpr}$$

2、按照样品质量计算

$$\begin{aligned}\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{g/g 鲜重}) &= (\Delta A + 2.423) \div 0.0328 \div (W \div V \text{ 样总}) \\ &= 30.49 \times (\Delta A + 2.423) \div W\end{aligned}$$

3、按照细菌或细胞密度计算

$$\begin{aligned}\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A + 2.423) \div 0.0328 \div (500 \div V \text{ 样总}) \\ &= 0.061 \times (\Delta A + 2.423)\end{aligned}$$

4、按照液体样本计算

$$\begin{aligned}\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{g/ml}) &= (\Delta A + 2.423) \div 0.0328 \div V \text{ 液} \\ &= 304.9 \times (\Delta A + 2.423)\end{aligned}$$

V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; V 液: 加入液体体积, 0.1ml; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W: 样品质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

b.用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定回归方程为 $y = 0.0164x - 2.423$; x 为谷氨酸含量 ($\mu\text{g/mL}$), y 为吸光值。

1、按照蛋白浓度计算

$$\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{g/mg prot}) = (\Delta A + 2.423) \div 0.0164 \div \text{Cpr} = 60.98 \times (\Delta A + 2.423) \div \text{Cpr}$$

2、按照样品质量计算

$$\begin{aligned}\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{g/g 鲜重}) &= (\Delta A + 2.423) \div 0.0164 \div (W \div V \text{ 样总}) \\ &= 60.98 \times (\Delta A + 2.423) \div W\end{aligned}$$

3、按照细菌或细胞密度计算

$$\begin{aligned}\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A + 2.423) \div 0.0164 \div (500 \div V \text{ 样总}) \\ &= 0.122 \times (\Delta A + 2.423)\end{aligned}$$

5、按照液体样本计算

$$\begin{aligned}\text{谷氨酸含量 } (\mu\text{g/ml}) &= (\Delta A + 2.423) \div 0.0164 \times V \text{ 反总} \div V \text{ 液} \\ &= 609.8 \times (\Delta A + 2.423)\end{aligned}$$

V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; V 液: 加入液体体积, 0.1ml; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W: 样品质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。