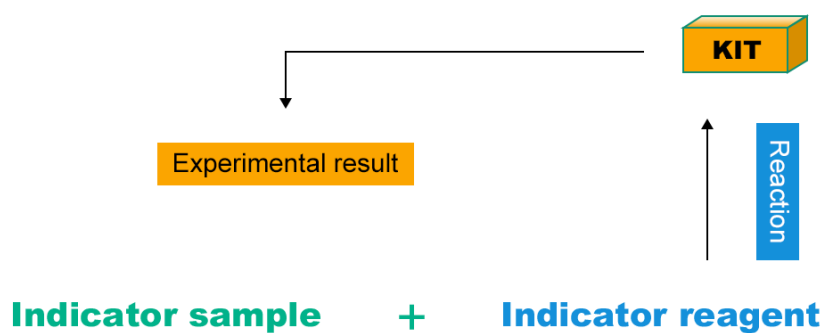


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0382

Size: 100T/96S

谷氨酸(Glu)检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、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。

三、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。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入 5mL 蒸馏水充分溶解混匀，用不完的试剂仍 4℃保存。

五、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。

六、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
样本	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。 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。对照管只要做一管。

七、谷氨酸含量计算：

- 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、标准条件下测定回归方程为 $y = 0.0074x - 0.5255$; x 为谷氨酸含量 ($\mu\text{g/mL}$), y 为吸光值。

2、按照血清（浆）或者细胞培养液体积计算

$$\text{谷氨酸含量} (\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (V3 \times V1 \div V2)$$

$$= 1351 \times (\Delta A + 0.5255)$$

3、按照蛋白浓度计算

$$\text{谷氨酸含量} (\mu\text{g/mg prot}) = [(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr})$$

$$= 135.1 \times (\Delta A + 0.5255) \div \text{Cpr}$$

4、按照样本质量计算

$$\text{谷氨酸含量} (\mu\text{g/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (W \times V1 \div V2)$$

$$= 135.1 \times (\Delta A + 0.5255) \div W$$

5、按照细菌或细胞密度计算

$$\text{谷氨酸含量} (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.5255) \div 0.0074 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2)$$

$$= 0.27 \times (\Delta A + 0.5255)$$

$V1$: 加入反应体系中样本体积, 0.25mL; $V2$: 加入提取液体积, 1 mL; $V3$: 加入血清（浆）或细胞培养液体积, 0.1 mL; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

- 用96 孔板测定的计算公式如下

1、标准条件下测定回归方程为 $y = 0.0037x - 0.5255$; x 为谷氨酸含量 ($\mu\text{g/mL}$), y 为吸光值。

2、按照血清（浆）或者细胞培养液体积计算

$$\begin{aligned}\text{谷氨酸含量}(\mu\text{g/mL}) &= [(\Delta A + 0.5255) \div 0.0037 \times V1] \div (V3 \times V1 \div V2) \\ &= 2703 \times (\Delta A + 0.5255)\end{aligned}$$

3、按照蛋白浓度计算

$$\begin{aligned}\text{谷氨酸含量}(\mu\text{g/mg prot}) &= [(\Delta A + 2.423) \div 0.0164 \times V1] \div (V1 \times Cpr) \\ &= 270.3 \times (\Delta A + 0.5255) \div Cpr\end{aligned}$$

5、按照样本质量计算

$$\begin{aligned}\text{谷氨酸含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 2.423) \div 0.0164 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \\ &= 270.3 \times (\Delta A + 0.5255) \div W\end{aligned}$$

5、按照细菌或细胞密度计算

$$\begin{aligned}\text{谷氨酸含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 2.423) \div 0.0164 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) \\ &= 0.541 \times (\Delta A + 0.5255)\end{aligned}$$

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.25mL; V2: 加入提取液体积, 1 mL; V3: 加入血清（浆）或细胞培养液体积, 0.1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

八、注意:

- 1、该试剂盒仅适用于发酵液或组织中谷氨酸含量测定, 检测下限为 100 $\mu\text{g/mL}$ 。
- 2、标准曲线线性范围为: 100 $\mu\text{g/mL}$ -600 $\mu\text{g/mL}$ 。
- 3、 ΔA 线性范围为: 0.01-1; 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, 计算公式中乘以相应稀释倍数。