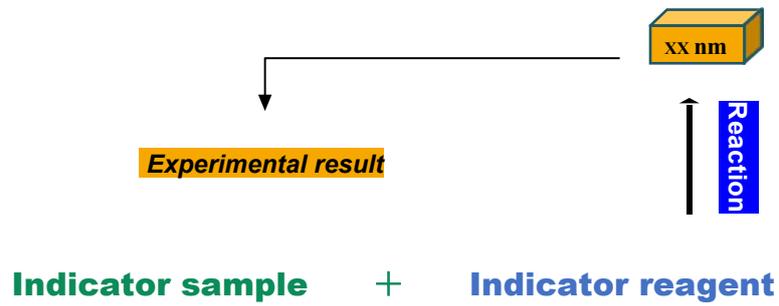


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	粉剂×1 瓶	-20℃保存	临用前加入 40mL 试剂一
试剂四	粉剂×1 瓶	-20℃保存	临用前加入 2.5mL 试剂二
标准品	液体 0.5mL×1 支	4℃保存	10 μmol/mL 谷氨酸标准品。

产品说明：

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 α-酮戊二酸、NADH 和 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。

需自备的仪器和用品：

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、冰、蒸馏水。

操作步骤：

一、谷氨酸提取

细菌、细胞或组织样品：收集细胞或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一，超声波破碎细菌或细胞（功率 20%，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），10000rpm，常温离心 10min，取上清待测。

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一进行冰浴匀浆，10000 rpm，常温离心 10min，取上清待测。

二、测定步骤

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、标准溶液的制备

将标准品分别稀释为 2.5、1.25、0.625、0.313、0.156、0.078、0.039 μmol/mL 的标准溶液。

3、在 1 mL 石英比色皿中加入下列试剂：

- a. 标准管：在 1 mL 石英比色皿中加入 200 μ L 标准溶液、800 μ L 试剂三和 50 μ L 试剂四混匀，立即记录 340nm 处 20s 时的吸光值为 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。
- b. 测定管：在 1 mL 石英比色皿中加入 200 μ L 样本、800 μ L 试剂三和 50 μ L 试剂四混匀，立即记录 340nm 处 20s 时的吸光值为 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。

三、谷氨酸含量计算

1、标准曲线的绘制：

以谷氨酸含量 ($\mu\text{mol/mL}$) 为 x 轴，标准管 ΔA 为 y 轴，绘制标准曲线 $y=kx+b$ 。将测定管 ΔA 带入方程得到 x 值。

2、氨基酸含量计算：

(1) 按照蛋白浓度计算

谷氨酸含量 ($\mu\text{mol/mg prot}$) = $x \times V_{\text{样本}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) = x \div C_{\text{pr}}$ 。

(2) 按照样本鲜重计算

谷氨酸含量 ($\mu\text{mol/g 鲜重}$) = $x \times V_{\text{样本}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样本}}) = x \div W$ 。

(3) 按照细菌或细胞数量计算

谷氨酸含量 ($\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}$) = $x \times V_{\text{样本}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样本}}) = 0.002x$ 。

V 样总：加入提取液体积，1mL；V 样本：加入的样本体积，0.2mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；

W：样本鲜重，g；1000：细菌或细胞总数，1000 万。

注意事项：

为提高检测灵敏度，测定管的吸光值应小于 1 且 ΔA 小于 0.4，若大于此值则需要将上清液用试剂一稀释至适当倍数后测定。