

谷氨酸(Glu)含量检测试剂盒说明书

Glutamic Acid Assay Kit

分光光度计法

货号: AK074

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液 ES51	100ml×1 瓶	4℃保存;
AK074-A	粉剂×1 支	4℃保存; 临用前加入 10mL 蒸馏水, 充分混匀溶解, 剩余试剂需 4℃保存。

简介:

意义: 谷氨酸 (Glutamic Acid, 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。

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。

自备用品:

可见分光光度计、1ml 玻璃比色皿、水浴锅、可调式移液枪、双蒸水。

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): 提取液 ES51 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 1000 万细菌或细胞加入 2mL 提取液 ES51), 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): 提取液 ES51 体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.2g 组 织, 加入 2mL 提取液 ES51), 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): 提取液 ES51 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议取 0.2mL 血清 (浆) 或者细胞培养液加入 2mL 提取液 ES51), 进行冰 浴匀浆。8000g 常温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

HL 测定操作:

1. 分光光度计预热 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:
3. 取带盖玻璃试管中按照下表操作

试剂名称	测定管 (ul)	对照管 (ul)
样本	1000	
提取液 ES51		1000
AK074-A	200	200
混匀, 90℃水浴 20min (盖紧, 以防止水分散失), 流水冷却, 于 570nm 波长处比色, $\Delta A = A_{测定管} - A_{对照管}$ 。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 则需要将上清液用提取液 ES51 稀释至适当倍数 后测定, 计算公式中乘以相应稀释倍数。

谷氨酸含量计算：

1. 按照血清（浆）或者细胞培养液体积计算

$$\text{谷氨酸含量 (}\mu\text{g/mL)} = [(\Delta A + 2.423) \div 0.0328 \times V1] \div (V3 \times V1 \div V2) = 304.9 \times (\Delta A + 2.423)$$

2. 按照蛋白浓度计算

$$\text{谷氨酸含量 (}\mu\text{g/mg prot)} = [(\Delta A + 2.423) \div 0.0328 \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) = 30.49 \times (\Delta A + 2.423) \div \text{Cpr}$$

3. 按照样本质量计算

$$\text{谷氨酸含量 (}\mu\text{g/g 鲜重)} = [(\Delta A + 2.423) \div 0.0328 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 61 \times (\Delta A + 2.423) \div W$$

4. 按照细菌或细胞密度计算

$$\text{谷氨酸含量 (}\mu\text{g}/10^4 \text{ cell)} = [(\Delta A + 2.423) \div 0.0328 \times V1] \div (1000 \times V1 \div V2) = 0.061 \times (\Delta A + 2.423)$$

5. 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 70 $\mu\text{g/mL}$ 。

注：V1：加入反应体系中样本体积，1mL；V2：加入提取液 ES51 体积，2 mL；V3：加入血清（浆）或细胞培养液体积，0.2 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量(g)；1000：细菌或细胞总数，1000 万。