

谷氨酸(Glu)含量检测试剂盒(WST 显色法)

中文名称：谷氨酸(Glu)含量检测试剂盒(WST 显色法)

英文名称：Glutamate(Glu)Content Assay Kit(WST colorimetry)

储存条件：-20℃

产品包装：盒装

检测方法：可见分光光度法

有效期：6个月

产品规格：50T/24S

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 70mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 2.5mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂四	粉剂×2 支	-20℃保存
试剂五	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
标准液	液体 0.5mL×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

1、试剂三：临用前取 1 瓶加入 18mL 试剂一充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存 4 周，
避免反复冻融；

2、试剂四：临用前取 1 支加入 1.2mL 试剂二充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存 2 周，
避免反复冻融；

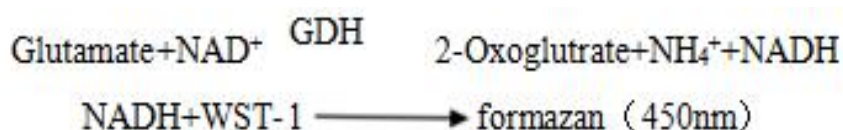
3、标准品液：10μmol/mL 谷氨酸标准品。

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^+ 在 1-mPMS 作用下，WST-1 可与 NADH 反应，产生水溶性 formazan，计算谷氨酸含量。



技术指标:

最低检出限: 0.009 $\mu\text{mol/mL}$

线性范围: 0.019-0.3125 $\mu\text{mol/mL}$

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器/超声破碎仪、冰、蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理(可适当调整待测样本量)

细菌、细胞: 收集细菌或细胞到离心管内，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 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次)，10000g，常温离心 10min，取上清待测。



组织：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一，进行冰浴匀浆，10000g，常温离心 10min，取上清待测。液体：直接测定。（若有浑浊则离心后取上清测定）

二、测定步骤

1.分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 450nm，蒸馏水调零。

2.标准溶液的制备:将标准品用蒸馏水分别稀释为 0.3125,0.15625,0.078125,0.039,0.0195、0.01 μ mol/mL 的标准溶液。

3.标准品稀释表：

序号	稀释前浓度(μ mol/mL)	标准液体积(μ L)	蒸馏水体积(μ L)	稀释后浓度(μ mol/mL)
1	10	30	930	0.3125
2	0.3125	500	500	0.15625
3	0.15625	500	500	0.078125
4	0.078125	500	500	0.039
5	0.039	500	500	0.0195
6	0.0195	500	500	0.01

实验中每个标准管需 200 μ L 标准溶液。

4. 操作表：

试剂(μ L)	测定管(A2)	对照管(A1)	标准管	空白管
标准品	-	-	200	-
蒸馏水	-	-	-	200
样品	200	200	-	-
试剂一	-	850	-	850
试剂三	800	-	800	-
试剂四	50	-	50	-
试剂五	150	150	150	150

混匀，37℃避光反应 30min。取 1000 μ L 至玻璃比色皿中，在 450nm 下读取对照管吸光值 A1、测定管 A2，计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。 ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。（标准管和空白管只需做 1-2 次，每个测定管需设一个对照管）

三、谷氨酸含量计算

1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度(x , $\mu\text{mol/mL}$)和吸光度 ΔA 标准(y , ΔA 标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 代入方程得到 $x(\mu\text{mol/mL})$ 。

2. 谷氨酸含量计算:

(1)按照蛋白浓度计算:

$$\text{谷氨酸含量}(\mu\text{mol/mgprot}) = x \times V_{\text{样本}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样本}}) = x \div \text{Cpr}$$

(2)按照样本质量计算:

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

(3)按照细菌或细胞数量计算:

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

(4)按照液体体积计算:

$$\text{谷氨酸含量}(\mu\text{mol/mL}) = x \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{样本}} = x$$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; $V_{\text{样本}}$: 加入的样本体积, 0.2mL; 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。

注意事项:

1、如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。

实验实例:

1、称取约 0.1g 鼠肺, 加入 1mL 试剂一, 冰浴研磨, 10000g, 常温离心 10min 取上清, 待测。之后按照测定步骤操作, 用比色皿测得计算 ΔA 测定= A 测定- A 对照= $0.475-0.345=0.13$, 标准曲线 $y=1.7612x+0.0039$, 根据标曲得出 $x=0.072$, 谷氨酸含量得:

$$\text{谷氨酸含量}(\mu\text{mol/g 质量}) = x \times V_{\text{样本}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样本}}) = x \div W = 0.72\mu\text{mol/g}.$$

2、吸取 0.2mL 羊血清, 按照测定步骤操作, 用比色皿测得计算 ΔA 测定= A 测定- A 对照= $0.669-0.141=0.528$,

标准曲线 $y=1.7612x+0.0039$ ，根据标曲得出 $x=0.298$ ，谷氨酸含量得：