

谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒 (紫外分光光度法)

产品货号: BA1125

产品规格: 50管/48样

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酸来源之一。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。

技术指标:

最低检出限: 0.023 $\mu\text{mol/mL}$

线性范围: 0.025-0.5 $\mu\text{mol/mL}$

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。

产品组成:

试剂一: 液体110mL \times 1瓶, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存;

试剂二: 液体5mL \times 1瓶, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存;

试剂三: 粉剂 \times 1瓶, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存;

试剂四: 粉剂 \times 1瓶, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存;

标准品: 液体0.5mL \times 1支, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

溶液的配制:

1. 试剂三: 临用前加入55mL试剂一;
2. 试剂四: 临用前加入3.5mL试剂二;
3. 标准品液: 10 $\mu\text{mol/mL}$ 谷氨酸标准品。

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、1mL石英比色皿、研钵/匀浆器、冰、蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理(可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

细菌、细胞: 收集细胞或细胞到离心管内,离心后弃上清;按照每1000万细菌或细胞加入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。

组织样本: 称取约0.1g组织,加入1mL试剂一进行冰浴匀浆,10000rpm,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0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.025 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准溶液。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

3. 在1mL石英比色皿中加入下列试剂:

(1) 标准管: 在1mL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 ΔA 标准=A2-A1。

(2) 测定管: 在1mL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 $\Delta A = A2 - A1$ 。

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

2. 氨基酸含量计算:

(1) 按照蛋白浓度计算: 谷氨酸含量 ($\mu\text{mol/mg prot}$) = $x \times V_{\text{样本}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样本}}) = x \div \text{Cpr}$ 。

(2) 按照样本质量计算: 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: 谷氨酸含量 ($\mu\text{mol}/10^4\text{cell}$) = $x \times V_{\text{样本}} \div (1000 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样本}}) = 0.001x$ 。

$V_{\text{样总}}$: 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; 1000: 细菌或细胞总数, 1000万。

注意事项:

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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com