

谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒 (WST显色可见分光光度法)

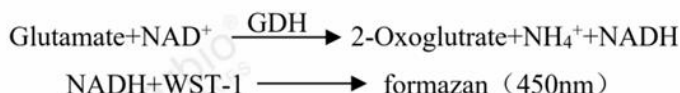
产品货号: BA2136

产品规格: 50T/24S

产品简介:

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。



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:

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

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°C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°C分装保存2周,避免反复冻融;
3. 标准液:10 $\mu\text{mol/mL}$ 谷氨酸标准品。

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、冰和蒸馏水。

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 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准溶液。
3. 标准品稀释表:

序号	稀释前浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)
1	10	30	930	0.3125
2	0.3125	500	500	0.15625



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	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

备注：下述实验中每个标准管需 200 μ L 标准溶液（注意不要在此步骤直接检测吸光度）。

4. 操作表：

试剂名称 (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 $^{\circ}$ C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-A 空白管。(标准管和空白管只需做 1-2 次)，每个测定管需要设定一个对照管。

谷氨酸含量计算：

1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度(x, μ mol/mL)和吸光度 AA 标准(y, AA 标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 AA 代入方程得到 x(μ mol/mL)。

2. 谷氨酸含量计算：

(1)按照蛋白浓度计算：

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

(2)按照样本质量计算：

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

(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：

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

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：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 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