

谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒 (WST显色微量法)

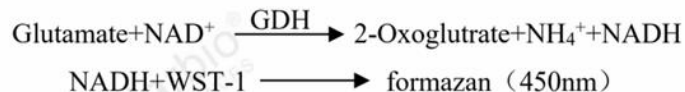
产品货号: BA2137

产品规格: 100T/48S

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85mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体1.5mL×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4mL×1支	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6mL试剂一,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0.5mL试剂二,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 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 谷氨酸标准品。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、台式离心机、可调式移液器、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/酶标仪预热30min以上,调节波长至450nm,分光光度计蒸馏水调零。
2. 标准溶液的制备:将标准品用蒸馏水分别稀释为0.625、0.3125、0.15625、0.07813、0.039、0.0195、0.01、0.005、0.0025 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 的标准溶液。
3. 标准品稀释表:



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

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	50	750	0.625
2	0.625	200	200	0.3125
3	0.3125	200	200	0.15625
4	0.15625	200	200	0.07813
5	0.07813	200	200	0.039
6	0.039	200	200	0.0195
7	0.0195	200	200	0.01
8	0.01	200	200	0.005
9	0.005	200	200	0.0025

备注：下述实验中每个标准管需 40 μL 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 (μL)	测定管 (A2)	对照管 (A1)	标准管	空白管
标准品	-	-	40	-
蒸馏水	-	-	-	40
样品	40	40	-	-
试剂一	-	170	-	170
试剂三	160	-	160	-
试剂四	10	-	10	-
试剂五	30	30	30	30

混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 避光反应 30min。200 μL 至微量比色皿/96 孔板中，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, $\mu\text{mol/mL}$)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：

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

(2)按照样本质量计算：

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

(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 样总：加入提取液体积，1mL；V 样本：加入的样本体积，0.04mL；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。



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