

谷氨酸（Glu）含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC1585

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 125 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂四	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂五	粉剂×1 支	-20℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

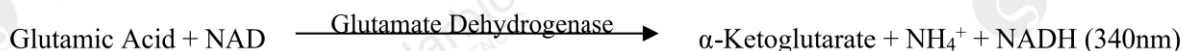
溶液的配制：

- 1、试剂三：临用前加入 20 mL 试剂一充分溶解。未用完的试剂-20℃分装保存 4 周，避免反复冻融。
- 2、试剂四：临用前加入 2 mL 试剂二充分溶解。未用完的试剂-20℃分装保存 4 周，避免反复冻融。
- 3、试剂五：临用前加入 1.5 mL 试剂四充分溶解。未用完的试剂-20℃分装保存 4 周，避免反复冻融。
- 4、标准品：10 μmol/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NH₄⁺，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：0.037 μmol/mL

线性范围：0.05-0.8 μmol/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：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔UV板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰、蒸馏水。

操作步骤：





一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 细胞/细菌按照细胞数量（ 10^6 个）：试剂一体积（mL）为5~1: 1的比例（建议5百万细胞/细菌加入1mL试剂一），冰浴超声波破碎细胞/细菌（功率200w，超声3秒，间隔10秒，总时间3min）；10000rpm，4℃离心10min，取上清置冰上待测。
2. 组织：按照质量（g）：试剂一体积（mL）为1: 5~10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL试剂一）加入试剂一，冰浴匀浆后，10000rpm，4℃离心10min，取上清置冰上待测。
3. 血清等液体：取 0.5mL 液体样本加入 0.5mL 试剂一充分震荡混匀，10000rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 临用前根据样本量取部分试剂二置于37℃预热5min以上。
3. 标准品的稀释：将10μmol/mL谷氨酸标准品用蒸馏水分别稀释为0.8、0.4、0.2、0.1、0.05μmol/mL的标准品备用。
4. 标准品稀释表：

序号	稀释前浓度 (μmol/mL)	标准品体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (μmol/mL)
1	10	200	800	2
2	2	500	500	1
3	1	500	125	0.8
4	0.8	300	300	0.4
5	0.4	300	300	0.2
6	0.2	300	300	0.1
7	0.1	300	300	0.05

备注：下述实验中每个标准管需40μL标准品（注意不要在此步骤直接检测标准品吸光度）。

5. 样本测定（在96孔UV板/微量石英比色皿中加入下列试剂）：

试剂名称 (μL)	测定管	标准管	空白管
样本	40	-	-
标准品	-	40	-
蒸馏水	-	-	40
试剂三	160	160	160
充分混匀，测定340nm下的吸光度A1，分别记为A1测定、A1标准和A1空白			
试剂五	10	10	10
充分混匀，然后迅速置于37℃准确反应30min，立即测定30min10s时的吸光度A2，分别记为A2测定、A2标准、A2空白。计算计算ΔA标准=（A2标准-A1标准）-（A2空白-A1空白），ΔA测定=（A2测定-A1测定）-（A2空白-A1空白）。标准曲线和空白管只需测1-2次。			

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 测定 (y , ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (x , $\mu\text{mol/mL}$)。

2. 谷氨酸 (Glu) 含量计算:

- (1) 按照蛋白浓度计算: $\text{Glu 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = x \times V_{\text{样本}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \times F = x \div C_{\text{pr}} \times F$
- (2) 按照样本质量计算: $\text{Glu 含量 } (\mu\text{mol/g 质量}) = x \times V_{\text{样本}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \times F = x \div W \times F$
- (3) 按照细菌或细胞数量计算: $\text{Glu 含量 } (\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = x \times V_{\text{样本}} \div (N \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \times F = x \div N \times F$
- (4) 按照液体样本体积计算: $\text{Glu 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = x \times 2 \times F = 2x \times F$

$V_{\text{提取}}$: 前处理中加入试剂一的体积, 1mL; $V_{\text{样本}}$: 加入的样本体积, 0.04mL; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; N : 细菌或细胞总数, 以 10^6 计; 2: 液体样本前处理的稀释倍数, (0.5mL 液体样本 + 0.5mL 试剂一) $\div$ 0.5mL 液体样本 = 2; ; F : 样本稀释倍数。

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用蒸馏水稀释样本后再进行测定。

实验实例:

- 1、取 0.106g 大鼠脑加入试剂一进行冰浴匀浆, 取上清后按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板测得 ΔA 测定 = A_2 测定 - A_1 测定 = $0.716 - 0.342 = 0.374$, 带入标曲 $y = 0.48x + 0.0062$, $R^2 = 0.9954$, 计算 $x = 0.766$, 按样本质量计算 Glu 含量得:
 $\text{Glu 含量 } (\mu\text{mol/g 质量}) = x \div W \times F = 7.226 \mu\text{mol/g 质量}$ 。
- 2、取 0.102g 绿豆粉加入试剂一进行冰浴匀浆, 取上清用蒸馏水稀释 2 倍后按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板测得 ΔA 测定 = A_2 测定 - A_1 测定 = $0.848 - 0.711 = 0.137$, 带入标曲 $y = 0.48x + 0.0062$, $R^2 = 0.9954$, 计算 $x = 0.273$, 按样本质量计算 Glu 含量得:
 $\text{Glu 含量 } (\mu\text{mol/g 质量}) = x \div W \times F = 5.353 \mu\text{mol/g 质量}$ 。
- 3、取 0.5mL 牛血清加入试剂一震荡混匀, 取上清用蒸馏水稀释 2 倍后按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板测得 ΔA 测定 = A_2 测定 - A_1 测定 = $0.273 - 0.130 = 0.143$, 带入标曲 $y = 0.48x + 0.0062$, $R^2 = 0.9954$, 计算 $x = 0.285$, 按样本质量计算 Glu 含量得:
 $\text{Glu 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = 2x \times F = 1.14 \mu\text{mol/mL}$ 。

相关发表文献:

- [1] Wei S, Zhao Q, Zheng K, Liu P, Sha N, Li Y, Ma C, Li J, Zhuo L, Liu G, Liang W, Jiang Y, Chen T, Zhong N. GFAT1-linked TAB1 glutamylation sustains p38 MAPK activation and promotes lung cancer cell survival under glucose starvation. Cell Discov. 2022 Aug 9;8(1):77. doi: 10.1038/s41421-022-00423-0. PMID: 35945223; PMCID: PMC9363421.
- [2] Jing Y, Luo L, Chen Y, Westerberg LS, Zhou P, Xu Z, Herrada AA, Park CS, Kubo M, Mei H, Hu Y, Lee PP, Zheng B, Sui Z, Xiao W, Gong Q, Lu Z, Liu C. SARS-CoV-2 infection causes immunodeficiency in recovered patients by downregulating CD19 expression in B cells via enhancing B-cell metabolism. Signal Transduct Target Ther. 2021 Sep 22;6(1):345. doi: 10.1038/s41392-021-00749-3. PMID: 34552055; PMCID: PMC8456405.
- [3] Han WM, Hao XB, Hong YX, Zhao SS, Chen XC, Wang R, Wang Y, Li G. NMDARs antagonist MK801 suppresses





LPS-induced apoptosis and mitochondrial dysfunction by regulating subunits of NMDARs via the CaM/CaMKII/ERK pathway. Cell Death Discov. 2023 Feb 11;9(1):59. doi: 10.1038/s41420-023-01362-9. PMID: 36774369; PMCID: PMC9922289.

- [4] Ke C, Gao J, Tu J, Wang Y, Xiao Y, Wu Y, Liu Y, Zhou Z. Ganfule capsule alleviates bile duct ligation-induced liver fibrosis in mice by inhibiting glutamine metabolism. Front Pharmacol. 2022 Oct 7;13:930785. doi: 10.3389/fphar.2022.930785. PMID: 36278176; PMCID: PMC9585157.
- [5] Zhang S, Zhang J, Wu L, Chen L, Niu P, Li J. Glutamine supplementation reverses manganese neurotoxicity by eliciting the mitochondrial unfolded protein response. iScience. 2023 Jun 15;26(7):107136. doi: 10.1016/j.isci.2023.107136. PMID: 37408687; PMCID: PMC10318524.

参考文献:

- [1] Beck R, Malthe-Sørensen D, Andreassen J P. Polycrystalline growth in precipitation of an aromatic amine derivative and l-glutamic acid[J]. Journal of crystal growth, 2009, 311(2): 320-326.

相关系列产品:

BC0290/BC0295 脯氨酸 (Pro) 含量检测试剂盒
BC0180/BC0185 半胱氨酸 (Cys) 含量检测试剂盒
BC5300/BC5305 谷氨酰胺 (Gln) 含量检测试剂盒
BC1570/BC1575 氨基酸 (AA) 含量检测试剂盒

