

谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

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：BC1580

规格：50T/48S

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 120 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 5 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 瓶	-20℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

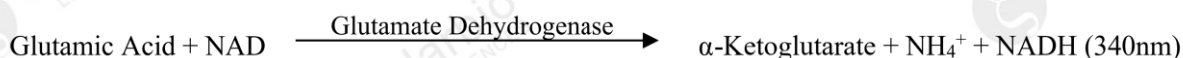
溶液的配制：

- 1、试剂三：临用前加入 55 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 4 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 3.5 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：0.023 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、台式离心机、可调式移液器、1mL石英比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、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）





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. 紫外分光光度计预热30min以上, 调节波长至340nm, 蒸馏水调零。
2. 临用前根据样本量取部分试剂三置于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、0.6、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	1	300	200	0.6
5	0.8	300	300	0.4
6	0.4	300	300	0.2
7	0.2	300	300	0.1
8	0.1	300	300	0.05

备注: 下述实验中每个标准管需200μL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(1mL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	200	-	-
标准品	-	200	-
蒸馏水	-	-	200
试剂三	800	800	800
充分混匀, 测定340nm下吸光度A1, 分别记为A1测定、A1标准和A1空白			
试剂五	50	50	50
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 $\Delta A_{\text{标准}} = (A2_{\text{标准}} - A1_{\text{标准}}) - (A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}})$, $\Delta A_{\text{测定}} = (A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}) - (A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}})$ 。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: $\text{Glu 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = x \times 2 \times F = 2x \times F$

$V_{\text{提取}}$: 前处理加入试剂一的体积, 1mL; $V_{\text{样本}}$: 加入的样本体积, 0.2mL; 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, 取上清用蒸馏水稀释 2 倍后按照测定步骤操作, 用 1mL 石英比色皿测得 ΔA 测定 = A_2 测定 - A_1 测定 = $0.917 - 0.528 = 0.389$, 带入标曲 $y = 0.8774x + 0.0198$, $R^2 = 0.9969$, 计算 $x = 0.421$, 按样本质量计算 Glu 含量得:
 $\text{Glu 含量 } (\mu\text{mol/g 质量}) = x \div W \times F = 7.94 \mu\text{mol/g 质量}$ 。
- 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 4 倍后按照测定步骤操作, 用 1mL 石英比色皿测得 ΔA 测定 = A_2 测定 - A_1 测定 = $0.832 - 0.665 = 0.167$, 带入标曲 $y = 0.8774x + 0.0198$, $R^2 = 0.9969$, 计算 $x = 0.168$, 按样本质量计算 Glu 含量得:
 $\text{Glu 含量 } (\mu\text{mol/g 质量}) = x \div W \times F = 6.588 \mu\text{mol/g 质量}$ 。
- 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 1mL 石英比色皿测得 ΔA 测定 = A_2 测定 - A_1 测定 = $0.497 - 0.176 = 0.321$, 带入标曲 $y = 0.8774x + 0.0198$, $R^2 = 0.9969$, 计算 $x = 0.343$, 按样本质量计算 Glu 含量得:
 $\text{Glu 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = 2x \times F = 1.372 \mu\text{mol/mL}$ 。

相关发表文献:

- [1] Hu X, Ma Z, Xu B, Li S, Yao Z, Liang B, Wang J, Liao W, Lin L, Wang C, Zheng S, Wu Q, Huang Q, Yu L, Wang F, Shi M. Glutamine metabolic microenvironment drives M2 macrophage polarization to mediate trastuzumab resistance in HER2-positive gastric cancer. *Cancer Commun (Lond)*. 2023 Aug;43(8):909-937. doi: 10.1002/cac2.12459. Epub 2023 Jul 11. PMID: 37434399; PMCID: PMC10397568.
- [2] Yuan Z, Wang J, Qu Q, Zhu Z, Xu M, Zhao M, Sun C, Peng H, Huang X, Dong Y, Dong C, Zheng Y, Yuan S, Li Y. Celastrol Combats Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by Targeting $\Delta 1$ -Pyrroline-5-Carboxylate Dehydrogenase. *Adv Sci (Weinh)*. 2023 Sep;10(25):e2302459. doi: 10.1002/advs.202302459. Epub 2023 Jun 28. PMID: 37381655; PMCID: PMC10477891.
- [3] Wang XP, Sun SP, Li YX, Wang L, Dong DJ, Wang JX, Zhao XF. 20-hydroxyecdysone reprograms amino acid





metabolism to support the metamorphic development of *Helicoverpa armigera*. *Cell Rep.* 2023 Jun 27;42(6):112644. doi: 10.1016/j.celrep.2023.112644. Epub 2023 Jun 12. PMID: 37310862.

- [4] Xu X, Wang J, Du S, Shen X, Lian J, Zhou J, Wang M, Feng W, Lv Z, Zhu J, Jin L, Sun H, Wu L, Wang X, Qiu H, Wang W, Teng H, Wang Y, Huang Z. Yes-associated protein regulates glutamate homeostasis through promoting the expression of excitatory amino acid transporter-2 in astrocytes via β -catenin signaling. *Glia.* 2023 May;71(5):1197-1216. doi: 10.1002/glia.24332. Epub 2023 Jan 8. PMID: 36617748.
- [5] Zhu Y, Fan Z, Zhao Q, Li J, Cai G, Wang R, Liang Y, Lu N, Kang J, Luo D, Tao H, Li Y, Huang J, Wu S. Brain-Type Glycogen Phosphorylase Is Crucial for Astrocytic Glycogen Accumulation in Chronic Social Defeat Stress-Induced Depression in Mice. *Front Mol Neurosci.* 2022 Jan 24;14:819440. doi: 10.3389/fnmol.2021.819440. PMID: 35140588; PMCID: PMC8820374.

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

