

# 谷氨酸测试盒

(货号: BC113 50 管/48 样)

## 一、试剂组成及配制: (试剂盒有效期 3 个月)

**试剂一:** 液体 40mL×1 瓶, 室温保存。

**试剂二:** 液体 60mL×1 瓶, 4℃避光保存。

**试剂三:** 粉剂×3 支, -20℃保存。稀释液 10mL×1 支, -20℃保存。用时每支粉剂加稀释液 2mL, 用不完的试剂-20℃保存, 不可超过 7~10 天。

**试剂四:** 粉剂×3 支, -20℃保存。稀释液 1mL×1 支, -20℃保存。用时每支粉剂加稀释液 0.2mL, 用不完的试剂-20℃保存, 不可超过 7~10 天。

**试剂五:** 粉剂×2 支, -20℃保存。稀释液 0.6mL×2 支, -20℃保存。用时将每支稀释液吸到粉剂中, 混匀, 用不完的试剂-20℃保存, 不可超过 10 天。

**试剂六:** 谷氨酸标准品粉剂×3 支, 稀释液 30mL×1 支, 4℃保存。用时先将一支标准品粉剂加 5mL 稀释液加热(可煮沸)溶解, 配成 10mmol/L 谷氨酸标准贮备液。每次测试时取贮备液 0.1mL 用稀释液(不需要加热)定容至 5mL, 配成 200μmol/L 谷氨酸标准应用液。

## 二、操作步骤:

### 1、样本前处理:

- ①、**血清(浆)等液体样本:** 取 0.2mL 的血清(浆)加 0.6mL 的试剂一(按 1: 3 比例), 充分混匀, 3000~3500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清待测。
- ②、**动物组织样本:** 准确称取组织重量,按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例, 加入 9 倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液待测即 10%的匀浆上清液(取部分上清液测蛋白浓度, 蛋白定量试剂盒本所有售); 取 10%的匀浆上清液 0.2mL 加 0.6mL 的试剂一(按 1: 3 比例), 充分混匀, 3000~3500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清待测。
- ③、**植物组织样本:** 方法一是先将植物组织用 PBS 清洗干净, 再用吸水纸吸干, 后剪碎放入研钵中, 液氮研磨成粉, 称取植物粉末, 按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例, 加入 9 倍体积的 PBS, 涡旋震荡(或研磨仪研磨) 1 分钟, 4000 转/分, 离心 10 分钟, 取匀浆上清液 0.2mL 加 0.6mL 的试剂一(按 1: 3 比例), 充分混匀, 3000~3500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清待测; 方法二是在洗净并擦干水分后, 直接称重, 按重量(g):体积(mL)=1:9 的比例, 加入 9 倍体积的 PBS, 冰水浴条件下机械匀浆, 4000 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液 0.2mL 加 0.6mL 的试剂一(按 1: 3 比例), 充分混匀, 3000~3500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清 0.5mL 待测。(注: 一般水分含量较高的植物用方法二来处理, 相反水分含量低或者干样推荐用方法一处理)
- ④、**细胞样本:** 收集细胞后, 每份细胞(细胞数量尽量不要低于  $10^6$  个, 越多越好)加

入 0.3mL 的生理盐水 (或者 PBS), 冰水浴下超声破碎 (功率 200-300W, 运行 5 秒, 间隔 15 秒, 反复 3-5 次), 4000 转/分离心 10 分钟, 取上清液 (上清液需要测定其蛋白浓度, 蛋白测定试剂盒本公司有售) 0.2mL 加 0.6mL 的试剂一(按 1: 3 比例), 充分混匀, 3000 ~ 3500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清 0.5mL 待测。

**2、规范操作表:**

|   | 空白管  | 标准管  | 测定管  |
|---|------|------|------|
| 双蒸水 (mL)  | 0.5  |      |      |
| 200μmol/L 谷氨酸标准应用液(mL)  |      | 0.5  |      |
| 待测上清液(mL)   |      |      | 0.5  |
| 试剂二(mL)   | 1.0  | 1.0  | 1.0  |
| 试剂三(mL)   | 0.1  | 0.1  | 0.1  |
| 试剂四(mL)   | 0.01 | 0.01 | 0.01 |
| 双蒸水(mL)   | 0.39 | 0.39 | 0.39 |
| 混匀, 340nm 处, 1cm 光径, 双蒸水调零, 测各管吸光度 A <sub>1</sub> 值   |      |      |      |
| 试剂五(mL)   | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| 混匀, 37°C水浴 40 分钟, 取出后于 340nm 处, 1cm 光径, 双蒸水调零, 测各管吸光度 A <sub>2</sub> 值,计算 ΔA=A <sub>2</sub> -A <sub>1</sub> |      |      |      |

**三、如果您的样本很多可采用简便操作法:**

1、配制工作液: 按试剂二:试剂三:试剂四:双蒸水 = 1.0:0.1:0.01:0.39 的比例进行配制, 用多少配多少, 现用现配。

**2、简化操作表:**

|   | 空白管  | 标准管  | 测定管  |
|---|------|------|------|
| 双蒸水 (mL)  | 0.5  |      |      |
| 200μmol/L 谷氨酸标准应用液 (mL)   |      | 0.5  |      |
| 待测上清液 (mL)  |      |      | 0.5  |
| 工作液 (mL)  | 1.5  | 1.5  | 1.5  |
| 混匀, 340nm 处, 1cm 光径, 双蒸水调零, 测各管吸光度 A <sub>1</sub> 值   |      |      |      |
| 试剂五 (mL)  | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| 混匀, 37°C水浴 40 分钟, 取出后于 340nm 处, 1cm 光径, 双蒸水调零, 测各管吸光度 A <sub>2</sub> 值,计算 ΔA=A <sub>2</sub> -A <sub>1</sub> |      |      |      |

**四、计算公式及举例:**

**1、血清 (浆) 等液体样本计算公式:**

$$\text{谷氨酸浓度} (\mu\text{mol/L}) = \frac{\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times 4$$

**动物组织 (或细胞) 的计算公式:**

$$\text{谷氨酸浓度} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{gprot}} \right) = \frac{\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times 4 \div \text{Cpr}$$

植物组织的计算公式：

$$\text{谷氨酸浓度} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{g组织}} \right) = \frac{\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times 4 \div \frac{W}{V_{\text{样总}}}$$

细胞样本的计算公式：

$$\text{谷氨酸浓度} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{万个细胞}} \right) = \frac{\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times 4 \div \frac{\text{细胞总数}}{V_{\text{样总}}}$$

以上公式中：

$C_{\text{标准}}$  为标准品浓度, 200 $\mu\text{mol/L}$ ;

4 为样本前处理(加试剂一)稀释倍数;

Cpr 为匀浆蛋白浓度, gprot/L (prot 指蛋白);

W 为组织重量, g;

$V_{\text{样总}}$ ：样本匀浆时的匀浆液总体积 (约等于加入的匀浆介质的总体积), L;

细胞总数：收集好用于破碎的细胞的总数量, 万个。

## 2、计算举例：

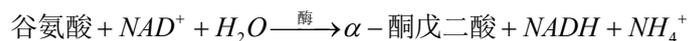
**例 1：**取 0.2mL 的人血清加入 0.6mL 的试剂一进行前处理，按说明书操作测得：测得空白管  $A_1$  值为 0.097，空白管  $A_2$  值为 0.098，标准管  $A_1$  值为 0.099，标准管  $A_2$  值为 0.412，测定管  $A_1$  值为 0.146，测定管  $A_2$  值为 0.198。则计算如下：

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸浓度} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{L}} \right) &= \frac{(0.198 - 0.146) - (0.098 - 0.097)}{(0.412 - 0.099) - (0.098 - 0.097)} \times 200 \times 4 \\ &= 130.72 \quad \mu\text{mol/L} \end{aligned}$$

**例 2：**取 10%的鼠肝组织匀浆 0.2mL 加试剂一 0.6mL 进行前处理，按说明书操作测得：测得空白管  $A_1$  值为 0.097，空白管  $A_2$  值为 0.098，标准管  $A_1$  值为 0.099，标准管  $A_2$  值为 0.412，测定管  $A_1$  值为 0.118，测定管  $A_2$  值为 0.343，10%的鼠肝组织匀浆蛋白含量为 11.285gprot/L。则计算如下：

$$\begin{aligned} \text{谷氨酸浓度} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{gprot}} \right) &= \frac{(0.343 - 0.118) - (0.098 - 0.097)}{(0.412 - 0.099) - (0.098 - 0.097)} \times 200 \times 4 \div 11.285 \\ &= 50.90 \quad \mu\text{mol/gprot} \end{aligned}$$

## 五、测试原理：



## 附录：标准曲线制备

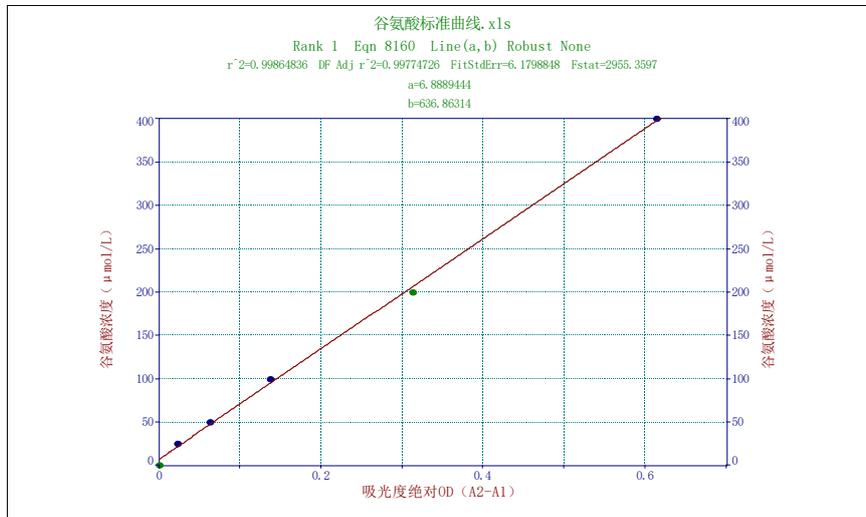
### 1、前处理：

将 10mmol/L 谷氨酸标准贮备液用标准品稀释液稀释成不同的浓度：25、50、100、200、400 $\mu$ mol/L 按操作表操作。

### 2、操作表：

|   | 空白管  | 标准管  |
|---|------|------|
| 双蒸水 (mL)  | 0.50 |      |
| 不同浓度的谷氨酸标准品 (mL)  |      | 0.50 |
| 试剂二(mL)   | 1.00 | 1.00 |
| 试剂三(mL)   | 0.10 | 0.10 |
| 试剂四(mL)   | 0.01 | 0.01 |
| 双蒸水(mL)   | 0.39 | 0.39 |
| 混匀，340nm 处，1cm 光径，双蒸水调零，测各管吸光度 A1 值   |      |      |
| 试剂五(mL)   | 0.02 | 0.02 |
| 混匀，37 $^{\circ}$ C 水浴 40 分钟，取出后于 340nm 处，1cm 光径，双蒸水调零，测各管吸光度 A <sub>2</sub> 值,计算 $\Delta A=A_2-A_1$ |      |      |

### 3、测定结果：



(标准曲线用户如果不做,只需按第一页操作表操作后,代入计算公式计算即可。如果需要做标准曲线,那就可以用制作标准曲线后拟合的计算公式计算)