CheKine™ 谷氨酸（Glu）含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1440　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

≠	**检测范围：**100-600 μg/mL		**灵敏度：**100 μg/mL
	适用样本：动植物组织、发酵液、细胞、血清（浆）		
	保质期：4℃，避光保存 6 个月		

01 背景与原理

谷氨酸（Glutamic acid，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。

本试剂盒检测原理是利用专用提取液提取，然后用显色剂进行显色，显色后在 570 nm 下进行测定。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Chromogen	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 570 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水/PBS	试剂配制用/样本处理用
其他	匀浆器（组织样本）、低温离心机、水浴锅、制冰机 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Chromogen Solution	临用前配制；使用前，每瓶 Chromogen 加入 10 mL 去离子水，平衡到室温	4℃避光保存；未用完的试剂 4℃避光保存一周

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- **动物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8000 g，常温离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **植物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer 捣碎，冰浴超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），8000 g，常温离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **发酵液样本**：取 0.1 mL 发酵液，加入 0.9 mL Extraction Buffer，混匀。8000 g，常温离心 10 min，取上清，置冰上待测
- **细胞**：收集 5×10^6 个细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL 预冷的 Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细胞 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），8000 g，常温离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **血清（浆）**：取 0.5 mL 血清（浆），加入 0.5 mL Extraction Buffer，混匀。8000 g，常温离心 10 min，取上清，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 570 nm。
2. **检测体系配制**：空白管只需测定 1 次。在 EP 管中按照如下方式操作：

试剂	测定管（μL）	空白管（μL）
样本上清	250	0
Extraction Buffer	0	250
Working Chromogen Solution	50	50

3. **吸光度检测：**混匀，沸水浴 20 min（盖紧，以防止水分散失），冷却至室温后，取 200 μL 至 96 孔板，检测 570 nm 处吸光值，分别记为 $A_{空}$、$A_{测}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn] > 进入“**技术中心**”> 查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A=A_{测}-A_{空}$

2. 标准曲线绘制

标准条件下测定回归方程为 y=270.27x+142.027；x 为吸光值，y 为谷氨酸含量（μg/mL）。

3. 样本谷氨酸（Glu）含量计算

- 按样本蛋白浓度计算

谷氨酸含量(μg/mg prot)=$(y\times V_{样})\div(V_{样}\times Cpr)\times n$**=y÷Cpr×n**

- 按样本质量计算

谷氨酸含量(μg/g)=$(y\times V_{样})\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\times n$**=y÷W×n**

- 按发酵液体积计算

谷氨酸含量(μg/mL)=y×10**=10y**

- 按样本体积计算

谷氨酸含量(μg/mL)=y×2**=2y**

- 按细胞数量计算

谷氨酸含量(μg/10^4)=$(y\times V_{样})\div(N\times V_{样}\div V_{样总})\times n$**=y÷N×n**

$V_{样}$：加入反应体系中样本体积，0.25 mL；$V_{样总}$：提取体系体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6，N=500）；10：发酵液的稀释倍数；2：液体样本的稀释倍数；n：样本稀释倍数。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 小鼠肝，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得$\Delta A=A_{测}-A_{空}=0.801-0.041=0.760$，代入标准曲线，计算 y=347.4322。谷氨酸含量(μg/g)=y÷W×n=3474.322 μg/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本ΔA 过高或者过低怎么办?**

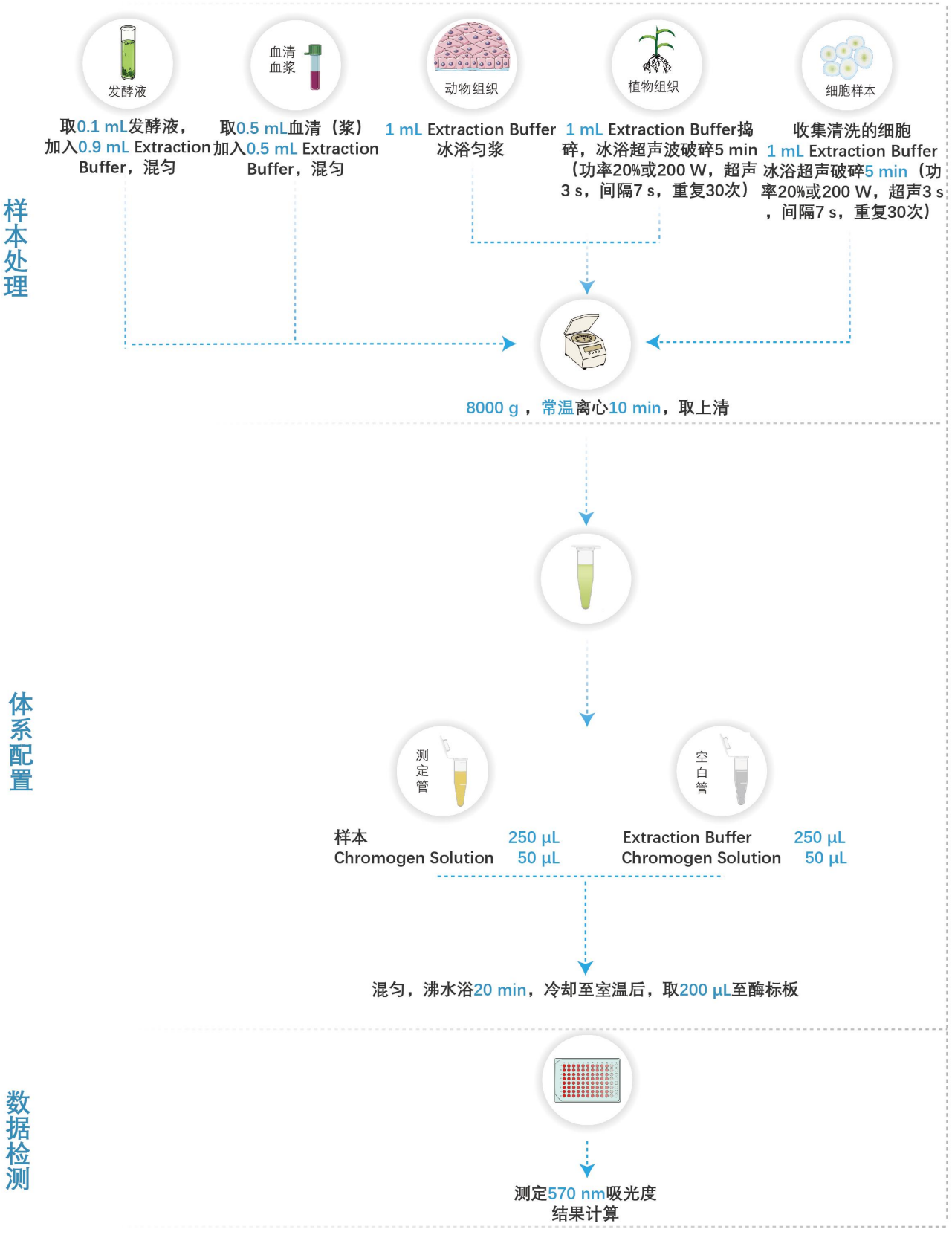
如果ΔA 小于 0.02 可适当加大样本量。为提高检测灵敏度，样本的ΔA 应小于 1.5，若大于 1.5，则需要将上清液用 Extraction Buffer 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1410	CheKine™ 谷丙转氨酶（ALT/GPT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1420	CheKine™ 谷草转氨酶（AST/GOT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1430	CheKine™ 脯氨酸（PRO）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1450	CheKine™ 半胱氨酸（Cys）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 谷氨酸（Glu）含量检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB1440）



V1.0