

Glutamine (Gln) Content Assay Kit

谷氨酰胺(Gln)含量测定试剂盒说明书

货号: G0429W | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

谷氨酰胺 (Gln) 是一种含量较丰富的氨基酸, 它是通过谷氨酸和氨的缩合反应生成的, 是一种非必需氨基酸; 其在蛋白质合成, 酸碱平衡, 合成代谢过程中起重要作用。

本试剂盒提供一种快速、灵敏的检测谷氨酸的方法, 利用谷氨酰胺酶使谷氨酰胺生成谷氨酸, 再通过谷氨酸脱氢酶特异作用于谷氨酸, 同时使生成的物质进一步与显色剂反应生成黄色物质, 该黄色物质在 450nm 处有最大吸收峰, 进而得出谷氨酰胺 (Gln) 的含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 μL ×1 支	-20℃保存	用前甩几下或 4℃离心使液体落入试管底部, 加入 0.3mL 蒸馏水混匀, 分装后-20℃保存。
试剂二	液体 0.5mL×1 支	4℃保存	
试剂三	液体 7mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	粉体 mg×1 支	-20℃保存	用前甩几下或 4℃离心使试剂落入试管底部, 再加 1.2mL 蒸馏水溶解, 仍-20℃保存。
试剂五	粉体 mg×1 支	-20℃保存	用前甩几下或 4℃离心使试剂落入试管底部, 再加 1.1mL 蒸馏水溶解, 可分装后-20℃保存。
试剂六	液体 1mL×1 支	4℃保存	
试剂七	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、水浴锅、冰、蒸馏水。

四、谷氨酰胺(Gln)含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本: 0.1g 组织样本 (水分充足的样本建议取 0.5g 左右), 加 1mL 的提取液研磨, 粗提液全部转移到 EP 管中, 12000rpm, 离心 10min, 上清液待测。

【注】: 若离心后的上清液 (一般高脂或高蛋白的样本如动物组织等) 比较浑浊, 可取出上清液转移至新 EP 管中再次或多次离心后取上清液测定; 也可取上清液于 95℃孵育 5-10min 后离心取上清液测定。

② 细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10^4): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样品: 澄清的液体样本直接检测, 若浑浊则 12000rpm, 离心 10min 取上清液待测。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 450nm。

② 所有试剂解冻至室温 (25℃), 或可放在 25℃条件下水浴 5-15min。

③ 试剂四和五和六和七可按照 10:10:10:100 比例配成混合液 (一枪加 130 μL 该混合液) (该

混合液用多少配多少，现配现用）。

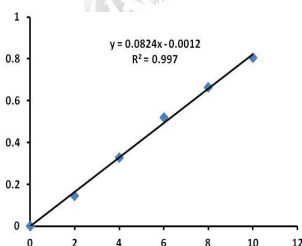
④ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	20	20
试剂一	5	
试剂二		5
试剂三	45	45
混匀，37℃，孵育 30min		
试剂四	10	10
试剂五	10	10
试剂六	10	10
试剂七	100	100
混匀，37℃（恒温培养箱）避光反应 30min（2min 内值不变，否则需延长反应时间），于 450nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本需设置一个对照）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程为 $y = 0.0824x - 0.0012$ ；x 为谷氨酰胺含量 (nmol)，y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按照样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{谷氨酰胺(Gln)}(\text{nmol/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0824] \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 606.8 \times (\Delta A + 0.0012) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{谷氨酰胺(Gln)}(\mu\text{g/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0824] \div (W \times V1 \div V) \times Mr \times 10^{-3} \times D \\ &= 88.68 \times (\Delta A + 0.0012) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{谷氨酰胺(Gln)}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0824] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 1.214 \times (\Delta A + 0.0012) \times D \\ \text{谷氨酰胺(Gln)}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0824] \div (500 \times V1 \div V) \times Mr \times 10^{-3} \times D \\ &= 0.18 \times (\Delta A + 0.0012) \times D \end{aligned}$$

4、按照液体体积计算：

$$\text{谷氨酰胺(Gln)}(\text{nmol/mL}) = [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0824] \div V1 \times D = 606.8 \times (\Delta A + 0.0012) \times D$$

$$\text{谷氨酰胺(Gln)}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0824] \div V1 \times Mr \times 10^{-3} \times D = 88.68 \times (\Delta A + 0.0012) \times D$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入反应体系中样本体积，0.02mL；

谷氨酰胺分子量 Mr---146.146； D---稀释倍数，未稀释即为 1； W---样本质量，g。