

谷氨酰胺（Gln）含量试剂盒

- 【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。

【货号】 TMC027

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
提取液	液体120mL×1瓶	4℃	
试剂一	液体uL×2支	-20℃	用前甩几下或4℃离心使液体落入试管底部，每支加入0.3mL蒸馏水混匀，可分装后-20℃保存。
试剂二	液体0.6mL×1支	4℃	
试剂三	液体14mL×1瓶	4℃	
试剂四	粉体mg×1瓶	-20℃	用前甩几下或4℃离心使试剂落入试管底部，再加2.5mL蒸馏水溶解，仍-20℃保存
试剂五	粉体mg×2支	-20℃	用前甩几下或4℃离心使试剂落入试管底部，每支再加1.1mL蒸馏水溶解，可分装后-20℃保存。
试剂六	液体2.2mL×1支	4℃	
试剂七	液体22mL×1瓶	4℃	
标准品	粉剂mg×1支	4℃	若重新做标曲，则用到该试剂

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

【操作步骤】 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130uL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(uL)	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)。		

⑤标准曲线结果计算①由标准品测定获得，如需重制见随货说明书或咨询。

3、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 。

②按照样本质量计算：

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

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

③按细胞数量计算：

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

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

④按照液体体积计算：

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

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

V—加入提取液体积，1mL； 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。

- 【注意事项】**
- 1、提取液含有蛋白沉淀组分，不能用于蛋白含量测定。
 - 2、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
 - 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。