

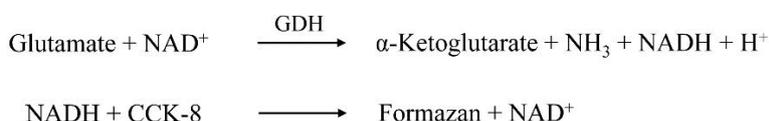
组织细胞样本谷氨酸 Glu 检测试剂盒 E2077

产品简介

谷氨酸检测试剂盒 (Glutamate Assay Kit) 是一种特异灵敏的检测谷氨酸 (Glutamate, Glu) 浓度的试剂盒。谷氨酸是一种非必需氨基酸, 在细胞代谢中发挥重要作用。同时谷氨酸还是食品增鲜剂和神经系统兴奋性神经递质。

本试剂盒利用谷氨酸脱氢酶 (L-Glutamic Dehydrogenase, GDH) 催化谷氨酸发生脱氢反应, 同时将 NAD^+ 还原为 NADH , 然后 NADH 与 CCK-8 试剂反应生成 NAD^+ 和甲赞 (Formazan), 通过测定甲赞 450nm 吸光度定量检测谷氨酸浓度。

检测反应示意图如下:



本试剂盒具有良好的检测线性, 检测谷氨酸的线性范围为 0.039-2.5 mM, 灵敏度 ≤ 0.039 mM。

本试剂盒能够检测细胞裂解上清、组织裂解上清等样品中的谷氨酸。

试剂盒组成(96T,48T 含量减半):

组份名称	规格	数量	储存
Glutamate Lysis Buffer	40 ml/瓶	1	-20°C
Glutamate Assay Buffer	80 ml/瓶	1	-20°C
NAD^+ Solution	800 μl /管	1	-20°C
GDH Solution	250 μl /管	1	-20°C
CCK-8 Solution	1 ml/管	2	-20°C
Glutamate Standard (50 mM)	100 μl /管	1	-20°C

需要而未提供的试剂及器材

1. 超纯水
2. 系列可调节量程移液器及吸头
3. 离心管及 96 孔板
4. 酶标仪

储存条件

-20°C 储存, 有效期 6 个月。

测定前准备

1. 样本的准备

- 1.1 细胞裂解上清的准备: 将需要测定的细胞(1×10^6 - 1×10^7)收集到离心管中, 4°C 、300 g 离心 5 分钟, 弃去上清, 然后加入 200 μl 的 Glutamate Lysis Buffer, 冰浴匀浆或超声裂解, 4°C 、10000 g 离心 15 分钟, 收集上清。
- 1.2 组织裂解上清的准备: 将需要测定的组织(20-50mg)收集到玻璃匀浆器或自动匀浆管中, 然后加入 0.4 ml 的 Glutamate Lysis Buffer, 匀浆 1 分钟, 4°C 、10000 g 离心 15 分钟, 收集上清。
- 2 注: 如果不立即进行测定, 将样品储存在 -80°C 冰箱。

2. 试剂盒的准备

谷氨酸检测工作液及其对照溶液的配制: 测定每个样本参考下表配制谷氨酸检测工作液及其对照溶液, 在实验前按以下顺序加入各种试剂后混匀。

	谷氨酸检测工作液对照溶液	谷氨酸检测工作液
Glutamate Assay Buffer	36 μl	34 μl
NAD ⁺ Solution	4 μl	4 μl
GDH Solution	—	2 μl
CCK-8 Solution	10 μl	10 μl

3. 标准品的准备

在 1.5 ml 离心管中, 加入 475 μl Glutamate Assay Buffer, 再取 25 μl 的 50 mM 浓度 Glutamate Standard 加入离心管中配制 2.5 mM 浓度谷氨酸标准品; 然后取另外 6 根 1.5 ml 离心管, 分别加入 200 μl Glutamate Assay Buffer, 再吸取 200 μl 的 2.5 mM 浓度谷氨酸标准品依次倍倍稀释为 1.25、0.625、0.312、0.156、0.078、0.039 mM 浓度。

测定方法

1. 参考下表, 使用透明 96 孔板, 依次加入标准品或样品、谷氨酸检测工作液, 混匀, 室温孵育 30 分钟。

	空白对照孔	标准曲线孔	样品对照孔	样品孔
Glutamate Assay Buffer	50 μl	—	40 μl	40 μl
Glutamate Standard	—	50 μl	—	—
样品	—	—	10 μl	10 μl
谷氨酸检测工作液对照溶液	—	—	50 μl	—
谷氨酸检测工作液	50 μl	50 μl	—	50 μl

2. 待反应完成后, 利用酶标仪测定 450nm 波长的吸光度, 如果样品中谷氨酸浓度偏高, 可以将样品适当稀释后测定。

数据处理

利用标准品浓度为横坐标, 450nm 波长的吸光度值为纵坐标制作标准曲线, 并获得横纵坐标之间的函数关系式, 然后将样品孔吸光度值减去样品对照孔吸光度值得到样品的真实吸光度值, 利用标准曲线和各

样品吸光度值计算样品中谷氨酸浓度。

注意事项

1. 每次测定时利用标准品制作标准曲线。
2. 实验过程中，除检测缓冲液外，其它试剂请置于冰上。
3. 本产品仅限专业人员用于科学研究，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

参考文献

1. Li H., Chen J., Chen C., et al. CSF glutamate level decreases in heavy smokers and negatively correlates with BDI scores. *Psychiatry Res.* 2018; 270: 627-630.
2. Hattula M.T., Wallin H.C. Enzymatic determination of free glutamic acid in dried soups and in minced sausages: NMKL collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1991; 74 (6): 921-925.