

## 谷氨酸 (Glu) 含量检测试剂盒 (快速)

### 检测意义及原理:

谷氨酸 (Glutamic acid, Glu) 是一种带有2个羧基的酸性氨基酸, 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。它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酸来源之一。谷氨酸是中枢神经系统中最主要的兴奋性神经递质, 参与记忆、学习等高级认知活动; 过量谷氨酸可能导致神经兴奋毒性, 与阿尔茨海默病、癫痫等疾病相关。此外谷氨酸由于有鲜味, 在味精、香料等食品工业中作为鲜味增强剂而被应用广泛。因此检测谷氨酸含量具有重要的生物医学意义。

本试剂盒采用可见光比色法在酶标板上操作, 标准品和待测样品中的谷氨酸与显色液发生反应, 生成物在460nm处有特征性吸收峰, 谷氨酸含量与此OD值成正比, 故而可根据标准曲线求出样品中游离谷氨酸含量。

### 试剂盒特点:

- 1. 单孔自身对照:** 本试剂盒中, 每孔样本既是实验组, 自身又是对照组。这样既避免了用缓冲液或提取液做对照导致的结果的不够精确性, 又避免了每个样本再多出一孔做对照而造成的样本浪费和操作繁琐。因此大大提升了实验效率。
- 2. 灵敏度高:** 本试剂盒采用最新方法改良配方, 可以检测到低至0~200 $\mu\text{mol/L}$ 范围内的游离谷氨酸含量。
- 3. 特异性强:** 本试剂盒基于最新科研成果研发, 具有对游离谷氨酸的检测高度专一、不受其他因素影响的优势。
- 4. 简单快速:** 30min内即可完成检测。
- 5. 大通量操作:** 本试剂盒反应敏感度适中, 实验结果稳定, 不会出现因为2~3min之时间差导致前后加样各组实验结果变化很大的情况。因此可一批次操作多个样本, 从而提升实验效率。

### 试剂盒组分: (保存: 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 避光, 有效期: 6个月)

名称	规格 (48 T)	规格 (96 T)
微孔板	8 $\times$ 6条	8 $\times$ 12条
谷氨酸标准品	1mL	1mL
提取液	50mL	100mL
缓冲液	15mL	30mL
催化液	260 $\mu\text{L}$	520 $\mu\text{L}$
增强液 (-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存)	30 $\mu\text{L}$	60 $\mu\text{L}$
底物剂 (-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存)	2.5mL	5mL
产品说明书	1份	1份

本试剂盒适用于血清、血浆、组织匀浆、细菌、细胞培养上清及其它样本。

### 需要自备试剂和器材:

1. 酶标仪、离心机、移液器、天平、水浴锅、制冰机及实验室常规仪器。
2. 多种规格单通道移液器或8通道移液器 (选用)。
3. 不同规格的试管和离心管, 加样槽。
4. 漩涡混匀器。

5. 去离子水。

## 标本收集:

- 组织标本:** 按照组织质量 (g) : 提取液(mL)为1: 5~15的比例 (建议称取约0.1g组织, 加入1mL提取液), 进行冰浴匀浆。8000rpm常温离心10min, 取上清置于冰浴中待测。
- 细菌或细胞标本:** 按照细胞数量 ( $10^4$ 个) : 提取液体积 (mL) 为500~1000: 1的比例 (建议500万细胞加入1mL提取液) 加入提取液, 冰浴超声波破碎细胞 (功率300w, 超声2秒, 间隔3秒, 总时间3min)。然后8000rpm常温离心10min, 取上清置于冰浴中待测。
- 血清 (浆) 或果汁等液体标本:** 取液体标本体积 (mL) : 提取液体积 (mL) 为1:5~10 (建议取0.1mL液体标本加入1mL提取液), 进行冰浴匀浆。8000rpm常温离心10min, 取上清置于冰浴中待测。

备注: 待测样本应尽早检测, 2~8℃保存1周; 更长时间须冷冻 (-20℃或-80℃) 保存, 避免反复冻融。

## 试剂准备:

### 1. 标准品的配制:

A, 谷氨酸标准液配制: 取谷氨酸标准液20μL加入到980μL提取液中, 混匀即得200μmol/L谷氨酸标准工作液。

B, 标准液浓度梯度配制: 如下图操作

组别	blank	S1	S2	S3	S4	S5	S6
谷氨酸标准液 (μL)	0	2	4	8	16	32	64
提取液 (μL)	64	62	60	56	48	32	0
稀释后谷氨酸浓度 (μmol/L)	0	6.25	12.5	25	50	100	200

注意: 1, 样品在什么溶液中, 标准品也需用什么溶液稀释, 这样可以减小误差。

2, 初次测定后知道样品的浓度范围后, 可以对标准品在样品浓度范围附近密集测定。

- 显色液的配制:** 在装有底物剂的试剂瓶中, 依次加入缓冲液、催化液和增强液 (48T试剂盒的分别加入2225μL、250μL和25μL, 96T试剂盒的分别加入4450μL、500μL和50μL), 充分混匀即得显色液。

注意: 每次实验, 请使用新配制的显色液; 配制好的显色液需要在4℃避光保存, 并于1d之内使用。

## 检测程序:

- 加待测样本:** 将配制好的标准液及待测样品各取20μL加入酶标板孔内。
- 加缓冲液及读数:** 每个标准液及待测样品酶标孔内加入缓冲液200μL, 混匀, 于460nm处读OD值 (标记为OD1)。
- 加显色液及读数:** 每个标准液及待测样品酶标孔内加入显色液50μL, 混匀; 将酶标板在37℃孵育30min, 于460nm处读OD值 (标记为OD2)。

注意: 该步骤需要使用8或12通道移液器操作。如果没有, 则最好将酶标板垫在纸中和保鲜膜上放置冰浴中再行操作 (尤其是样本量多的情况下); 或者快速加液 (2~3min内完成)。

## 结果判断与计算:

- 所有各孔OD值为OD2 - OD1。
- 以标准品浓度作横坐标, OD值作纵坐标, 手工绘制或用软件绘制标准曲线, 根据样品OD值计算出相应含量, 再乘以稀释倍数即可。

## 注意事项

1. 请自备1.5mL离心管及离心管架等常规检测设备及仪器。
2. 正式测定之前选择2~3个预期差异大的样本做预测定，以熟悉实验流程。
3. 试剂盒开封后剩余试剂放回袋中1个月内用完。
4. 所有试剂在使用前务必先摇匀。
5. 实验前请认真仔细阅读此说明书，说明书以试剂盒内纸质版为准。
6. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断!
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性口罩和手套操作。

## 相关文献:

1: Low expression of dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin in non-Hodgkin lymphoma and a significant correlation with b2-microglobulin

Med Oncol (2014) 31:202 DOI 10.1007/s12032-014-0202-6.

2: APRIL promotes non-small cell lung cancer growth and metastasis by targeting ERK1/2 signaling

Oncotarget, 2017, Vol. 8, (No. 65), pp: 109289-109300

3: Knockdown of SALL4 inhibits the proliferation, migration, and invasion of human lung cancer cells in vivo and in vitro

Ann Transl Med 2020;8(24):1678 | <http://dx.doi.org/10.21037/atm-20-7939>

4: NF90 stabilizes cyclin E1 mRNA through phosphorylation of NF90-Ser382 by CDK2

Ding et al. Cell Death Discovery (2020) 6:3 <https://doi.org/10.1038/s41420-020-0236-9>.

注: 更多使用本产品的文献请参考威奥生物官网。