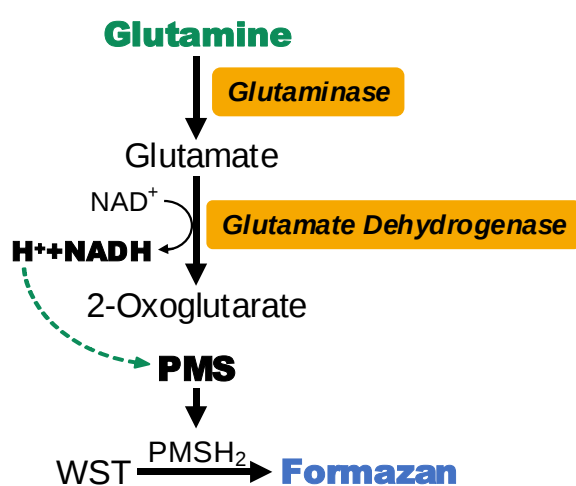




谷氨酰胺 (Gln) 含量检测试剂盒

Glutamine (Gln) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



谷氨酰胺 (Gln) 含量检测试剂盒

Glutamine (Gln) Content Assay Kit

一、产品描述

谷氨酰胺 (Gln) 是蛋白质合成的重要组成部分, 在生物体内主要以游离态和结合态两种状态存在, 游离谷氨酰胺在机体代谢过程中起着重要作用, 同时也是三羧酸循环中 α -酮戊二酸的主要来源, 在能量代谢中发挥重要作用, 可通过糖酵解和三羧酸循环途径参与能量的产生与供应。

游离谷氨酰胺在谷氨酰胺酶的催化作用下转变为谷氨酸, 谷氨酸脱氢酶催化谷氨酸和 NAD 生成 α -酮戊二酸、NADH 和 NH_4^+ , 在 1-mPMS 作用下, WST 能够与 NADH 反应生成水溶性 Formazan, 产物在 450 nm 处具有特征吸收峰, 根据吸光值变化即可定量检测谷氨酰胺的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液 A	液体 80 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 30 mL×1 瓶 (自备试剂)	4°C 保存	氯仿 (CHCl_3 , MW = 119.38, CAS: 67-66-3)
试剂一	液体 2 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前每支加入 200 μL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 20 mL 提取液 A 充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂五	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 1.5 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂六	液体 4 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	10 $\mu\text{mol/mL}$ 谷氨酰胺标准液
标准应用液的制备 (现用现配): 将 10 $\mu\text{mol/mL}$ 谷氨酰胺标准液使用蒸馏水稀释至 0.4 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准应用液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿 (光径 10 mm) /96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.样本处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液 A 体积（mL）为 1:（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液 A）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 5 min，吸取 500 μL 上清液加入 500 μL 提取液 B，剧烈振荡 5 min，4℃ 12000 g 离心 5 min，吸取上层清液置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（10⁴ 个）：提取液 A 体积（mL）为（500-1000）:1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液 A）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 5 min，吸取 500 μL 上清液加入 500 μL 提取液 B，剧烈振荡 5 min，4℃ 12000 g 离心 5 min，吸取上层清液置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：吸取 500 μL 液体样本，加入 500 μL 提取液 B，剧烈振荡 5 min，4℃ 12000 g 离心 5 min，取上层清液置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 450 nm，蒸馏水调零。

②试剂二工作液的制备（现用现配）：根据使用量按照试剂二：蒸馏水=1:14 的体积比配制。

③在离心管中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	40	40	-	-
标准应用液	-	-	40	-
蒸馏水	-	-	-	40
试剂二工作液	40	-	40	40
试剂三	20	60	20	20
充分混匀，37℃准确反应 1 h				
试剂四	160	160	160	160
试剂五	10	10	10	10
试剂六	30	30	30	30
充分混匀，37℃避光反应 1 h				
12000 g 常温离心 5 min，取上清液				

吸光值测定：吸取 200 μL 上清液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 450 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样本均需设一个对照管，空白管只需测 1-2 次。

3.谷氨酰胺（Gln）含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{谷氨酰胺含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}} = \frac{0.4 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{谷氨酰胺含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}} = \frac{0.4 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{谷氨酰胺含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}} = \frac{0.4 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{谷氨酰胺含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}} = \frac{0.4 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

注释： C 标：标准应用液浓度，0.4 $\mu\text{mol/mL}$ ； V 样总：提取过程中加入提取液 A 体积，1 mL；

Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL； W：样本质量，g； 细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

①提取液 B 中含有蛋白沉淀组分，待测样本不能用于蛋白含量测定；若使用蛋白浓度计算谷氨酰胺含量，则需另取样本使用 PBS 或生理盐水按照相同步骤制备为待测样本，再进行蛋白浓度测定；

②若 ΔA 测定大于 0.7，建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.02，建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

