

谷氨酰胺检测试剂盒 (100T)

一般说明

谷氨酰胺是一种在肌肉中合成的氨基酸，它在蛋白质合成、酸碱平衡、合成代谢过程中发挥重要作用。本试剂盒基于将谷氨酰胺水解为谷氨酸，用比色法测定产物，在 565 nm 处测定的吸光强度与样品中谷氨酰胺的浓度成正比。检测范围 0.05 - 2 mM 谷氨酰胺。

应用

直接检测：血清、血浆、尿液、组织和细胞培养物。

试剂盒组成与保存

缓冲液：15 mL NAD 试剂：1 mL A 酶：120 μ L MTT 试剂：2 x 1.5 mL B 酶：220 μ L 标准液：400 μ L

终止试剂：25 mL

储存：-20°C 保存。

检测步骤

1、标准曲线：将5 μ L标准液和245 μ L蒸馏水混合，得到2.0 mM谷氨酰胺预混液，照下表稀释标准液：

标号	预混液 + H ₂ O	终量(μ L)	(mM)
1	100 μ L + 0 μ L	100	2.0
2	60 μ L + 40 μ L	100	1.2
3	30 μ L + 70 μ L	100	0.6
4	0 μ L + 100 μ L	100	0.0

转移20 μ L 稀释不同浓度的标准品到平底透明96孔板中。

样品：转移20 μ L 样品到96孔板的不同孔中。

注意：如果已知样品含有谷氨酸，则需要样品空白对照。转移20 μ L 样本到另一孔。

2、反应。为每个标准液和样品孔准备反应试剂：混合 65 μ L 缓冲液、1 μ L A 酶、1 μ L B 酶、2.5 μ L NAD 试剂和 14 μ L MTT 试剂。为空白样品准备空白反应试剂：混合 65 μ L 缓冲液、1 μ L B 酶、2.5 μ L NAD 试剂和 14 μ L MTT 试剂(即没有 A 酶)。反应试剂现用现配。

向每个标准液和样品孔加80 μ L 反应试剂。空白样品孔加80 μ L 空白反应试剂。轻敲平板使液体混合均匀。

3、室温下反应 40 分钟。每孔加入 100 μ L 终止试剂停止反应。在 565nm 处读取吸光值。

浓度计算

标准品吸光度减去对照(标号 4)的吸光度，根据差值描绘标准曲线，确定斜率(Slope)并计算谷氨酰胺的浓度。

注意：如果计算出样品谷氨酰胺的浓度高于 2mM，稀释样品重新测试，将得到的结果乘以稀释倍数 n 。

换算：1 mM 谷氨酰胺 = 146 mg/L。

注意事项

1. 本产品仅供研究用，使用过程中严格遵循实验安全措施。
2. 下列物质会干扰试验，在样品制备时要避免：抗坏血酸、SDS (>0.2%)、叠氮化钠、NP-40 (>1%)、吐温-20 (>1%)。

