（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K903-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(440-460 nm)

Elabscience®谷氨酸(Glu)比色法测试盒

Glutamic Acid (Glu) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清血浆、尿液、动植物组织及细胞样本中谷氨酸（Glu）的含量。

检测原理

谷氨酸（Glu）在酶的催化作用下可将 NAD^+ 还原成 NADH，NADH 在递氢物质的作用下将 WST-8 还原生成橙黄色的物质，该物质在 450 nm 有最大吸收峰。通过测定 450 nm 下吸光值可计算样本中 Glu 含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	8 mL×1 瓶	16 mL×1 瓶	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	1.2 mL×1 支	1.2 mL×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	50 mmol/L 标准品 (50 mmol/L Standard)	1 mL×1 支	1 mL×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(440-460 nm，最佳检测波长 450 nm)，恒温箱(37°C)，低温离心机，水浴锅

试剂：生理盐水(0.9% NaCl)

耗材：10 KD 超滤管

试剂准备

① 检测前，所有试剂平衡至室温，试剂五使用前需60°C水浴加热约10 min至完全溶解。

② 试剂二工作液配制：

取一支试剂二加入1.2 mL双蒸水充分溶解，置于冰盒上待用，未用完部分-20°C可避光保存7天。

③ 试剂三工作液的配制：

取一支试剂三加入1.2 mL双蒸水充分溶解，置于冰盒上待用，未用完部分-20°C可避光保存7天。

④ 反应工作液的配制：

将试剂二工作液：试剂三工作液：试剂四按照1：1：1体积比进行配制，现配现用，按需配制，配制好的工作液置于冰盒上避光待用，3 h内使用完毕。

⑤ 1 mmol/L的标准品配制：

按50 mmol/L标准品溶液：双蒸水=1：49的体积比进行配制，配好的标准品溶液当天有效。

⑥ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	**0**	**0.1**	**0.2**	**0.3**	**0.5**	**0.6**	**0.7**	**0.8**
1 mmol/L 标准品(μL)	0	20	40	60	100	120	140	160
双蒸水(μL)	200	180	160	140	100	80	60	40

样本准备

① 样本处理

组织样本：取0.1 g新鲜组织样本，加入0.9 mL生理盐水(0.9% NaCl)匀浆，4°C，12000 × g离心15 min，取上清用10 KD超滤管离心过滤，收集滤液待测

细胞样本：收集1×10^6细胞样本加入200 μL生理盐水(0.9% NaCl)匀浆，4°C，12000 × g离心15 min，取上清用10 KD超滤管离心过滤，收集滤液待测

血清(浆)、尿液等液体样品：使用10 KD超滤管离心过滤，收集滤液待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.006-0.8 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%大鼠肝组织	不稀释	10%大鼠肺组织	不稀释
10%大鼠脑组织	1-2	10%小鼠肝组织	不稀释
10%大鼠脾组织	不稀释	10%大鼠胰腺组织	不稀释
10%牛肝组织	不稀释	10%猪心组织	不稀释
人血清	3-5	人尿液	不稀释

注：样本稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)。

操作步骤

① 标准孔：向标准孔中加入 30 μL 不同浓度的标准品；
测定孔：向测定孔中加入 30 μL 待测样本。

② 向步骤①中的标准孔和测定孔各加入 130 μL 试剂一。

③ 向步骤②中各孔加入 60 μL 反应工作液。

④ 振板 3 s，37°C 下避光孵育 20 min，酶标仪 450 nm 下测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔
标准品(μL)	30	
待测样本(μL)		30
试剂一(μL)	130	130
反应工作液(μL)	60	60
振板 3 s，37°C 下避光孵育 20 min，酶标仪 450 nm 下测定各孔 OD 值		

结果计算

标准品拟合曲线：y = ax + b

组织样本中 Glu 含量计算公式：

$$\text{Glu 含量 (mmol/kg wet weight)} = (\Delta A_{450} - b) \div a \div \frac{m}{V} \times f$$

细胞样本中 Glu 含量计算公式：

$$\text{Glu 含量 (mmol/10^6)} = (\Delta A_{450} - b) \div a \div \frac{n}{V} \times f$$

血清血浆样本中 Glu 含量计算公式：

$$\text{Glu 含量 (mmol/L)} = (\Delta A_{450} - b) \div a \times f$$

注解：

y：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA_{450}：测定 OD 值-空白 OD 值

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

m：组织湿重质量，g

n：细胞样本的数量，10^6

V：样本匀浆液体积，mL

附录1 关键数据

1. 技术参数

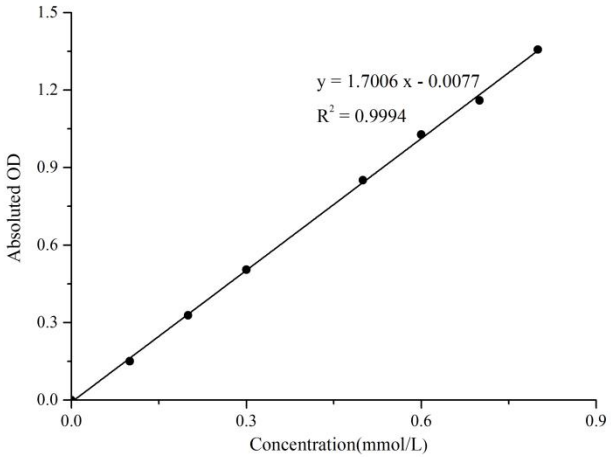
检测范围	0.006-0.8 mmol/L	**批间差**	4.4 %
灵敏度	0.006 mmol/L	**批内差**	0.8 %
回收率	98 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度标准品加样量30 μL，按照操作步骤进行实验，各点OD值如下表所示：

标准品浓度 (mmol/L)	**0.0**	**0.1**	**0.2**	**0.3**	**0.5**	**0.6**	**0.7**	**0.8**
OD 值	0.053	0.201	0.380	0.552	0.900	1.085	1.221	1.404
	0.052	0.204	0.382	0.563	0.908	1.076	1.204	1.415
平均 OD 值	0.053	0.203	0.381	0.558	0.904	1.081	1.213	1.410
绝对 OD 值	0.000	0.150	0.329	0.505	0.852	1.028	1.160	1.357

②绘制标曲(如下图)：



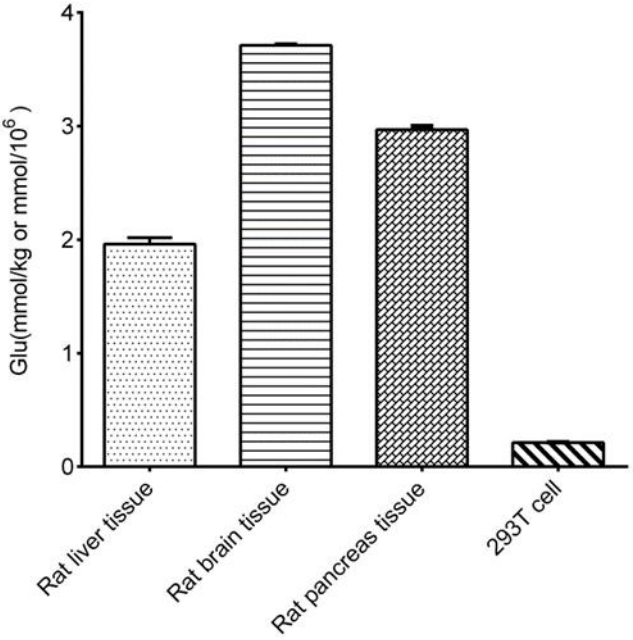
附录2 实例分析

例如检测10%大鼠肝脏组织(数据仅供参考)：

取10%大鼠肝脏组织匀浆上清液30 μL，按操作表操作，结果如下：标准曲线：y = 1.7006 x + 0.0077，空白孔OD值为0.053，测定孔OD值为0.416，组织湿重质量为0.1 g，计算结果为：

$$\text{Glu 含量 (mmol/kg wet weight)} = (0.416 - 0.053 - 0.0077) \div 1.7006 \div \frac{0.1}{0.9} = 1.88 \text{ mmol/kg weight wet}$$

按说明书操作，测定10%大鼠肝组织匀浆（加样量30 μL）、10%大鼠脑组织匀浆（加样量30 μL）、10%大鼠胰腺组织匀浆（加样量30 μL）和293T细胞（加样量30 μL）的Glu含量(如下图)：



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。