

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

谷氨酸测定试剂盒(WST-8 法) Glutamic Acid (Glu) Assay Kit (WST-8 Method)

产品货号: BC00029

产品规格: 50T

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:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	谷氨酸测定试剂盒(WST-8 法)
产品英文名称	Glutamic Acid (Glu) Assay Kit (WST-8 Method)
检测方法	Colorimetric
样品类型	血清、血浆、尿液、动植物组织、细胞
检测类型	Quantitative
检测仪器及波长	酶标仪（450-490 nm，最佳检测波长 470nm）

产品简介

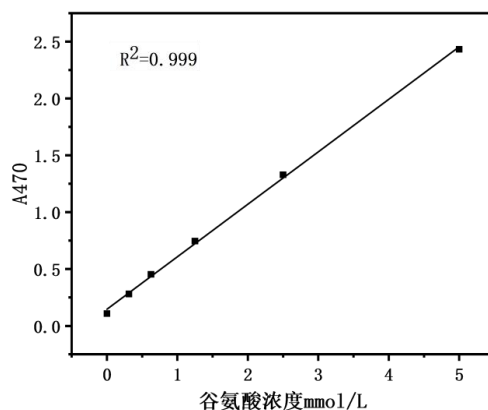
谷氨酸大量存在于谷类蛋白质中，动物脑中含量也较多。谷氨酸在生物体内蛋白质代谢过程中占重要地位，且参与动物、植物和微生物中的许多重要化学反应，它也是脊椎动物神经系统中丰富的兴奋性神经递质。谷氨酸是一种重要的非必须氨基酸，这意味着人体可以合成足够的营养素来供其使用。

产品特点

- ★ WST-8 是 MTT 的一种升级替代产品，和 MTT 或其他 MTT 类似产品如 XTT、MTS 等相比有明显的优点。首先，MTT 被一些脱氢酶还原生成的 formazan 不是水溶性的，需要有特定的溶解液来溶解；而 WST-8 和 XTT、MTS 产生的 formazan 都是水溶性的，可以省去后续的溶解步骤。其次，WST-8 产生的 formazan 比 XTT 和 MTS 产生的 formazan 更易溶解。再次，WST-8 比 XTT 和 MTS 更加稳定，使实验结果更加稳定。
- ★ WST-8 和 MTT、XTT 等相比，线性范围更宽，灵敏度更高。
- ★ WST-8 和 WST-1 相比，检测灵敏度更高，更易溶解，并且更加稳定。

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 470 nm 有最大吸收峰,在一定范围内吸光度值与浓度成正比。通过测定 470 nm 或相近波长下的吸光值可计算样本中 Glu 含量。



产品组分

编号	产品名称	包装规格 (50T)	保存方式
试剂一	缓冲液	8 mL	-20℃, 避光保存
试剂二	酶试剂	粉剂	-20℃, 避光保存
试剂三	底物	粉剂	-20℃, 避光保存
试剂四	显色剂	1.2 mL	-20℃, 避光保存
试剂五	50 mmol/L 标准品	1 mL	-20℃, 避光保存
耗材一	96 孔酶标板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 6 个月。

实验前准备

• 样品处理

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℃, 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。
2. 细胞样本:收集 1×10^6 细胞样本加入 200 μ L 生理盐水(0.9%NaCl)匀浆, 4℃, 12000 $\times$ g

离心 15 min，取上清用 10 KD 超滤管离心过滤，收集滤液待测。

3. 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。
4. 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，根据预实验的结果和本试剂盒的检测范围 0.1-5mmol/L 进行适当稀释。样本稀释液为生理盐水 (0.9% NaCl)。一般情况下，人血清可稀释 3-5 倍，人尿液不稀释。

• 试剂盒的准备工作

1. 检测前，所有试剂平衡至室温，50 mmol/L 标准品使用前需 60°C 水浴加热约 10 min 至完全溶解。
2. 酶试剂工作液配制：取一支酶试剂加入 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. 底物工作液的配制：取一支底物加入 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：将酶试剂工作液：底物工作液：显色剂按照 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. 5 mmol/L 的标准品配制：按 50 mmol/L 标准品溶液：双蒸水=1:9 的体积比进行配制，配好的标准品溶液当天有效。
6. 不同浓度的标准品的配制：将 5 mmol/L 的标准品按照对半稀释法，稀释成如下浓度 5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0（空白孔）mmol/L，配好的标准品溶液当天有效。

操作流程

1. 标准孔：向标准孔中加入 30 μ L 不同浓度的标准品；测定孔：向测定孔中加入 30 μ L 待测样本。
2. 向步骤“1”中的标准孔和测定孔各加入 130 μ L 缓冲液。
3. 向步骤“2”中各孔加入 60 μ L 反应工作液。
4. 振板 3 s，37°C 下避光孵育 20 min（可适当调整时间长短），酶标仪 470 nm 或相近波长下测定各孔吸光度（450nm-490nm 均可，470nm 处最佳）。

	标准孔	测定孔
标准品(μL)	30	--
待测样本(μL)	--	30
缓冲液(μL)	130	130
反应工作液(μL)	60	60
振板 3 s, 37°C 下避光孵育 20 min (可适当调整时间长短), 酶标仪 470 nm 或相近波长下测定各孔吸光度 (450nm-490nm 均可, 470nm 处最佳)。		

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

组织样本中 Glu 含量 (mmol/kg wet weight) = $(\Delta A_{470} - b) \div a \div m/V \times f$

细胞样本中 Glu 含量 (mmol/ 10^6) = $(\Delta A_{470} - b) \div a \div n/V \times f$

血清血浆样本中 Glu 含量计算公式: Glu 含量 (mmol/L) = $(\Delta A_{470} - b) \div a \times f$

y: 标准孔吸光度-空白孔吸光度(标准品浓度为 0 时的吸光度)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{470} : 测定吸光度-空白吸光度

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

注意事项

1. 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。
2. 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。

3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。