

Glutamine Synthetase Activity Assay Kit

谷氨酰胺合成酶(GS)活性检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL877A	谷氨酰胺合成酶(GS)活性检测试剂盒	24T

产品简介:

谷氨酰胺合成酶 (GS, EC 6.3.1.2) 主要存在于植物中, 是生物体内氨同化的关键酶之一, 植物吸收的无机氮经硝酸还原酶 (NR) 和亚硝酸还原酶 (NIR) 还原成 NH_4^+ 后, 通过谷氨酰胺合成酶 (GS) 参与的 GS/GOGAT 途径才能进行氮素的同化和利用。不仅可以防止过多的铵离子对生物有毒性, 而且谷氨酰胺也是氨的主要储存和运输形式。

谷氨酰胺合成酶 (GS) 在 ATP 和 Mg^{2+} 存在下, 催化铵离子和谷氨酸合成谷氨酰胺; 谷氨酰胺进一步转化为 γ -谷氨酰基异羟肟酸, 在酸性条件下形成的络合物在 540nm 处有最大吸收峰, 进而得到谷氨酰胺合成酶 (GS) 的酶活性大小。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 30mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4°C 保存	临用前 37°C 预热 10min, 充分溶解
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4°C 保存	临用前 37°C 预热 10min, 充分溶解
试剂三	粉末×1 瓶	-20°C 保存	用前甩几下或 4°C 离心使试剂落入试管底部, 再加入 7mL 蒸馏水充分溶解待用, 仍-20°C 保存。
试剂四	液体 15mL×1 瓶	4°C 保存	

使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费。

一、样本准备:

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 10000~12000g 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 根据研究需求, 可按组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 10 的比例进行提取。

2. 细菌/细胞样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- 取约 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- 10000~12000g 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1ml 提取液的比例进行提取。

二、样品测定:

- 可见分光光度计预热 30 min, 调节波长至 540nm, 蒸馏水调零。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



2. 在离心管中依次加入：

试剂 (μL)	测定管	对照管
样本	200	200
试剂一	-	320
试剂二	320	-
试剂三	120	120
混匀，37°C水浴 30min		
试剂四	200	200
混匀，反应 2min，8000rpm，4°C离心 10min，全部上清液转移至 1ml 玻璃比色皿中，于 540nm 处分别读取吸光值 A， ΔA=A 测定-A 对照（每个测定管须设一个对应的对照管）。		

【注】：若ΔA 值低于 0.01，可增加样本加样体积 V1（如由 200μL 增至 400μL，则试剂一和试剂二相应减少 120μL，试剂三相应减少 80μL），保持反应总体积不变。或增加样本取样质量 W（由 0.1g 增加到 0.2g 或更高）。则改变后的 V1 和 W 需代入公式重新计算。

结果计算

1. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白在每分钟内使 A540 吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GS(U/mg prot)} &= \Delta A \div (\text{Cpr} \times V1) \div 0.01 \div T \\ &= 16.7 \times \Delta A \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

2. 按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织在每分钟内使 A540 吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GS(U/g 鲜重)} &= \Delta A \div (W \times V1 \div V) \div 0.01 \div T \\ &= 16.7 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

3. 按细菌或细胞密度计算：

单位定义：每百万细菌或细胞在每分钟内使 A540 吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GS(U/10}^4 \text{ cell)} &= \Delta A \div 0.01 \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ &= 0.033 \times \Delta A \end{aligned}$$

V----加入提取液体积，1 mL

T----反应时间，30 min

500----细胞数量

V1----加入样本体积，0.2mL

W----样本质量，g

Cpr----样本蛋白质浓度，mg/mL

注意事项：

1. 因提取液中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白质浓度测定。如需测定蛋白质浓度，需另取组织测定。
2. 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。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

-20°C保存三个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

