

# 谷氨酰胺合成酶(GS)活性检测试剂盒(微量法)

注意: 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号: BA1130

产品规格: 100管/48样

### 产品简介:

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,催化铵离子和谷氨酸合成谷氨酰胺,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。

GS在ATP和Mg<sup>2+</sup>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,在酸性条件下与铁形成红色的络合物;该络合物在540nm处有最大吸收峰,可用分光光度计测定。

### 产品内容:

提取液:液体60mL×1瓶,4℃保存。

试剂一:液体10mL×1瓶,-20℃保存。

试剂二:液体10mL×1瓶,-20℃保存。

试剂三: 粉剂×2瓶,-20℃保存。用时每瓶加入5mL蒸馏水充分溶解备用,用不完的试剂仍-20℃保存。

试剂四:液体15mL×1瓶,4℃保存。

## 需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

## 操作步骤:

#### 一、样本测定的准备

称取约0.1g组织,加入1mL提取液进行冰浴匀浆。8000g,4℃离心10min,取上清,置冰上待测。

#### 二、测定步骤

- 1、 分光光度计预热30min以上,调节波长至540nm,蒸馏水调零。
- 2、 在EP管中加入下列试剂:

试剂名称(μL)	测定管	对照管
试剂一	160	
试剂二		160
试剂三	70	70
样本	70	70
混匀,37℃(哺乳动物)或25℃(其他物种)准确水浴30min		
试剂四	100	100

混匀,静置10min后,5000g,常温离心10min,取200μL上清液至微量玻璃比色皿或96孔板中,测定540nm处的吸光值A。 $\triangle A=A$ 测定管-A对照管。

#### 三: GS活力单位的计算

## a.用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下

(1) 按血清(浆)体积计算



免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866 邮箱: shsunbao@126.com http://www.saint-bio.com

日一扫 加微信



单位定义:每mL血清(浆)在每mL反应体系中每min使540下吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

- GS (U/mL) = $\Delta A \times V$ 反总÷V样÷0.01÷T =19× $\Delta A$
- (2) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义:每mg组织蛋白在反应体系中每min使540nm下吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

- GS(U/mg prot) = $\Delta A \times V$ 反总÷(Cpr $\times V$ 样)÷0.01÷T =19 $\times \Delta A$ ÷Cpr
- (3) 按样本鲜重计算

单位的定义:每g组织在反应体系中每min使540nm下吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

- GS(U/g鲜重)=ΔA×V反总÷(V样÷V样总×W)÷0.01÷T=19×ΔA÷W
- (4) 按细菌或细胞数量计算

单位定义:每1万个细菌或细胞在每mL反应体系中每min使540nm下吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

GS (U/10<sup>4</sup> cell) =ΔA×V反总÷ (500×V样÷V样总) ÷0.01÷T =0.038×ΔA

V反总:反应体系总体积,400μL=0.4mL; V样:加入样本体积,70μL=0.07mL; V样总:加入提取液体积,1 mL; T:反应时间,30min; Cpr: 样本蛋白质浓度,mg/mL; W:样品质量,g; 500:细菌或细胞总数,500 b.用96孔板测定的计算公式如下

(1) 按血清(浆)体积计算

单位定义:每mL血清(浆)在每mL反应体系中每min使540下吸光值变化0.005定义为一个酶活力单位。

- GS (U/mL) =ΔA×V反总÷V样÷0.005÷T =38×ΔA
- (2) 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义:每mg组织蛋白在反应体系中每min使540nm下吸光值变化0.005定义为一个酶活力单位。

- GS(U/mg prot)=ΔA×V反总÷(Cpr×V样)÷0.005÷T =38×ΔA÷Cpr
- (3) 按样本鲜重计算:

单位的定义:每g组织在反应体系中每min使540nm下吸光值变化0.005定义为一个酶活力单位。

- GS(U/g鲜重) = ΔA×V反总÷(V样÷V样总×W)÷0.005÷T =38×ΔA÷W
- (4) 按细菌或细胞数量计算

单位定义:每1万个细菌或细胞在每mL反应体系中每min使540nm下吸光值变化0.005定义为一个酶活力单位。

GS(U/10<sup>4</sup>cell)= $\Delta A \times V$ 反总÷(500 $\times V$ 样÷V样总)÷0.005÷T=0.076 $\times \Delta A$ 

V反总: 反应体系总体积,400μL=0.4mL; V样: 加入样本体积,70μL=0.07mL; V样总: 加入提取液体积,1mL; T: 反应时间,30min; Cpr: 样本蛋白质浓度,mg/mL; W: 样品质量,g; 500: 细菌或细胞总数,500万。

## 注意事项:

试剂一、试剂二可能会有析出,可以重悬后使用,反应后取上清测定。