

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0372

Size: 100T/96S

谷氨酰胺酶 (GLS) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

GLS (EC 3.5.1.2) 存在于高等动物和某些细菌以及植物根中, 催化谷氨酰胺水解成谷氨酸和氨, 在氮素代谢中具有重要调控作用, 尤其是调节游离氨含量和尿素代谢。

二、测定原理:

GLS 催化谷氨酰胺水解成 L-谷氨酸和氨, 利用奈氏试剂检测氨增加的速率, 即可计算其酶活性。

三、需自备的仪器和用品:

台式离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、可调式移液枪、研钵、冰和双蒸水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	60 mL × 2 瓶	4°C 保存	
试剂二	40mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂三	60mL × 1 瓶	常温保存	
试剂四	5mL × 1 瓶	常温保存	
试剂五	3mL × 1 瓶	常温保存	
试剂六	3mL × 1 瓶	常温避光保存	

五、粗酶液提取：

1、细菌、细胞或组织样品的制备：

细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：试剂一体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细菌或细胞加入1mL试剂一），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL试剂一），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

血清（浆）样品：直接检测。

2、测定步骤：

1) 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至420nm，蒸馏水调零。

2) 样品测定（在EP管中加入下列试剂）：

试剂名称 (uL)	测定管	对照管
样本	25	
蒸馏水		25
试剂一	100	100
试剂二	400	400
混匀，37℃水浴 1 小时		
试剂三	525	525
混匀，8000 g，25℃离心 10 min；取上清液，在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂		
上清液	130	130
试剂四	30	30
试剂五	20	20
试剂六	20	20

混匀，420nm 处读取测定管和对照管吸光值，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。对照管只要做一管。

六、酶活性计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、血清（浆）GLS 活性

单位定义：每mL血清（浆）每小时催化谷氨酰胺生成1 μmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS} (\mu\text{mol/h/mL}) = 363.1 \times (\Delta A - 0.1301) \div T = 363.1 \times (\Delta A - 0.1301)$$

2、组织、细菌或细胞 GLS 活性

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每mg蛋白质每小时催化谷氨酰胺生成1 μmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS} (\mu\text{mol/h/mg prot}) = 363.1 \times (\Delta A - 0.1301) \div \text{Cpr} \div T = 363.1 \times (\Delta A - 0.1301) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算：

单位定义：每g组织每小时催化谷氨酰胺生成1 μmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS} (\mu\text{mol/h/g 鲜重}) = 363.1 \times (\Delta A - 0.1301) \div (W \div V_{\text{样总}}) \div T = 363.1 \times (\Delta A - 0.1301) \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算

单位定义：每1万个细菌或细胞每小时催化谷氨酰胺生成1 μmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS} (\mu\text{mol/h}/10^4\text{cell}) = 363.1 \times (\Delta A - 0.1301) \div (500 \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.7262 \times (\Delta A - 0.1301)$$

V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，1h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

b. 用96孔板测定的计算公式如下

1、血清（浆）GLS 活性

单位定义：每mL血清（浆）每小时催化谷氨酰胺生成1 μmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS} (\mu\text{mol/h/mL}) = 726.2 \times (\Delta A - 0.1301) \div T = 726.2 \times (\Delta A - 0.1301)$$

2、组织、细菌或细胞 GLS 活性

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每mg蛋白质每小时催化谷氨酰胺生成1 μmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS} (\mu\text{mol/h/mg prot}) = 726.2 \times (\Delta A - 0.1301) \div \text{Cpr} \div T = 726.2 \times (\Delta A - 0.1301) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每g组织每小时催化谷氨酰胺生成1 μmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS} (\mu\text{mol} / \text{h} / \text{g} \text{鲜重}) = 726.2 \times (\Delta A - 0.1301) \div (W \div V \text{样总}) \div T$$
$$= 726.2 \times (\Delta A - 0.1301) \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算

单位定义: 每1万个细菌或细胞每小时催化谷氨酰胺生成1 μmol 氮定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS} (\mu\text{mol} / \text{h} / 10^4 \text{cell}) = 726.2 \times (\Delta A - 0.1301) \div (500 \div V \text{样总}) \div T = 1.4524 \times (\Delta A - 0.1301)$$

V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; T: 反应时间, 1h; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万