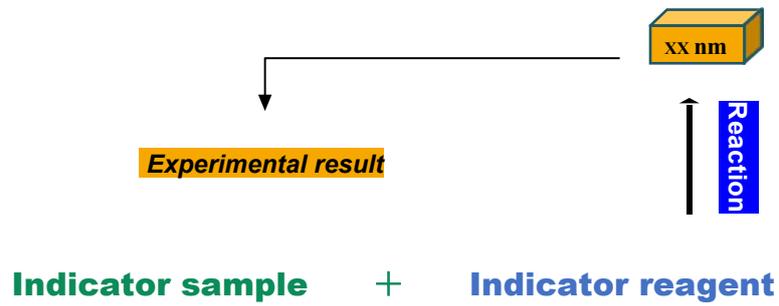


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 谷氨酰胺合成酶 (GS) 检测试剂盒

### 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

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
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 双蒸水充分溶解备用，用不完的试剂仍-20℃分装保存。
试剂四	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	-

产品说明：

GS (EC 6.3.1.2) 主要存在于植物中，是生物体内氮同化的关键酶之一，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，而且谷氨酰胺也是氮的主要储存和运输形式。

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  $\gamma$ -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。

所需的仪器和用品

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/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本测定的准备

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)：提取液体积 (mL) 为 500~1000：1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液)，超声波破碎细菌或细胞 (冰浴，功率 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)：提取液体积 (mL) 为 1：5~10 的比例 (建议称取约 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。

2、血清 (浆) 样品：直接检测。

## 二、测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热 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°C（哺乳动物）或 25°C（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。 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管需设一个对照管。

## 三、GS 活力单位的计算

1. 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

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。

$$GS (U/mL) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div 0.01 \div T = 19 \times \Delta A$$

(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。

$$GS (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div 0.01 \div T = 19 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(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。

$$GS (U/g \text{ 鲜重}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div 0.01 \div T = 19 \times \Delta A \div W$$

(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。

$$GS (U/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 0.038 \times \Delta A$$

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，1 mL；T：反应时间，30 min；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。

2. 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。

$$GS (U/mL) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div 0.005 \div T = 38 \times \Delta A$$

(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 0.005 定义为一个酶活力单位。 $GS (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div 0.005 \div T = 38 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

(2) 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。

$$GS (U/g \text{ 鲜重}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div 0.005 \div T = 38 \times \Delta A \div W$$

(3) 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。

$$GS (U/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 0.076 \times \Delta A$$

V 反总: 反应体系总体积, 400 $\mu$ L=0.4mL; V 样: 加入样本体积, 70 $\mu$ L=0.07mL; V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; T: 反应时间, 30 min; 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。