

谷氨酰胺合成酶（GS）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1129

产品规格：50管/24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Mg²⁺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。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

提取液：液体30mL×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、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 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（10⁴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。
2. 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。
3. 血清（浆）样品：直接检测。

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	320	
试剂二		320
试剂三	140	140
样本	140	140
混匀，37℃（哺乳动物）或25℃（其他物种）准确水浴30min		
试剂四	200	200



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

混匀，静置10min后，5000g，常温离心10min，取上清液测定540nm处的吸光值A。△A=A测定管-A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. 血清（浆）GS活性

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。

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

2. 组织、细菌或细胞GS活性

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白在每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。

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

(2) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织在每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。

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

(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，0.8mL；V样：加入样本体积，0.14mL；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：样本质量，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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com