

## 谷氨酰胺酶(GLS) 活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1127

产品规格：50管/24样

### 产品简介：

GLS (EC3.5.1.2) 主要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。

本试剂盒利用靛酚蓝比色法测定GLS催化谷氨酰胺生成的氨来计算其酶活性。

**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70mL×1瓶，4℃保存；使用前37℃预热。

试剂一：粉剂×1瓶，4℃保存；临用前加入10mL提取液溶解。

试剂二A：液体1mL×1支，4℃保存。

试剂二B：液体4mL×1瓶，4℃保存；临用前将试剂二A倒入试剂二B中混匀（A:B=1：4比例）。

试剂三：液体5mL×1瓶，常温保存。

标准品：液体1mL×1支，10μmol/mL氮标准液，4℃保存；使用前37℃预热。

### 需自备的仪器和用品：

台式离心机、可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和双蒸水。

### 操作步骤：

#### 一、粗酶液提取：

1. 组织：按照质量（g）：蒸馏水体积(mL)为1：5-10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL提取液），冰上匀浆后于4℃，12000g离心15min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10<sup>4</sup>个）：提取液体积（mL）为500-1000：1的比例（建议500万个细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3s，间隔7s，总时间3min）；然后4℃，12000g离心15min，取上清置于冰上待测。

#### 二、测定步骤：

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至630nm，蒸馏水调零。
2. 将标准溶液用提取液稀释128倍得0.078μmol/mL的标准溶液。
3. 样品测定（在EP管中加入下列试剂）

| 试剂名称（μL）    | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 |
|-------------|-----|-----|-----|-----|
| 样品          | 80  | 80  | -   | -   |
| 提取液         | -   | 320 | -   | 400 |
| 试剂一         | 320 | -   | -   | -   |
| 混匀，37℃水浴1小时 |     |     |     |     |
| 标准液         | -   | -   | 400 | -   |
| 试剂二         | 80  | 80  | 80  | 80  |
| 试剂三         | 60  | 60  | 60  | 60  |



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

|     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|
| 蒸馏水 | 460 | 460 | 460 | 460 |
|-----|-----|-----|-----|-----|

混匀，室温放置30min，630nm处读取吸光值A，分别记为A测定管、A对照管、A标准管、A空白管，计算 $\Delta A = A$ 测定管-A对照管， $\Delta A$ 标准=A标准管-A空白管。

### 三、GLS酶活性计算：

#### 1. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：37℃下每mg蛋白质每小时催化谷氨酰胺生成1 $\mu$ mol NH<sub>3</sub>-N定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GLS (U/mg prot)} &= \Delta A \div (\Delta A \text{标准} \div C \text{标准}) \times V \text{酶促} \div (V \text{样品} \times C \text{pr}) \div T \\ &= 1.5625 \times \Delta A \div \Delta A \text{标准} \div C \text{pr}。 \end{aligned}$$

#### 2. 按样本鲜重计算：

单位定义：37℃下每g组织每小时催化谷氨酰胺生成1 $\mu$ mol NH<sub>3</sub>-N定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GLS (U/g 鲜重)} &= \Delta A \div (\Delta A \text{标准} \div C \text{标准}) \times V \text{酶促} \div (W \div V \text{提取} \times V \text{样品}) \div T \\ &= 1.5625 \times \Delta A \div \Delta A \text{标准} \div W \end{aligned}$$

#### 3. 按细胞数量计算：

单位定义：37℃下每500万个细胞每小时催化谷氨酰胺生成1 $\mu$ mol NH<sub>3</sub>-N定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GLS (U/10}^4 \text{cell)} &= \Delta A \div (\Delta A \text{标准} \div C \text{标准}) \times V \text{酶促} \div (V \text{样品} \div V \text{提取}) \div T \\ &= 1.5625 \times \Delta A \div \Delta A \text{标准}。 \end{aligned}$$

C标准：标准液浓度，0.3125 $\mu$ mol/mL；V酶促：酶促反应体积，0.4mL；V提取：加入提取液体积，1mL；V样品：上清液体积，0.08mL；T：反应时间，1h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g。

### 注意事项：

1. 当测定吸光值大于0.7时，建议将上清液进一步稀释后测量，计算时乘以稀释倍数。
2. 试剂二配置后尽快使用，若发现变色则不能再用。



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