

谷氨酸合成酶（GOGAT）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1071

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织、细菌、真菌

产品简介

GOGAT 主要存在于原核生物、酵母菌及高等植物非绿色组织的前质体中，和谷氨酰胺合成酶（GS）共同构成 GS/GOGAT 循环，参与氮同化的调控。本试剂盒提供了一种简单的比色法来检测生物样本中谷氨酸合成酶（GOGAT）活性。其原理是 GOGAT 以 NADH 为电子供体，催化谷氨酰胺的氨基转移到 α -酮戊二酸形成两分子的谷氨酸，NADH 在 340nm 吸光度的下降速率可以反映 GOGAT 活性大小。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂一	10mL	20mL	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃ 保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 340nm 处的吸光值）及恒温培养箱
96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
离心机、制冰机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：临用前每瓶试剂二中加入 9mL 试剂一充分溶解混匀，现配现用（配好后 3h 内用完）。

样本制备

植物组织：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 预冷的提取液，冰浴匀浆。8000g 4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。
细菌或真菌：先收集 500 万细菌或真菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 预冷的提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后；8000g 4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在 -80℃ 保存 1 个月。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 340nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 试剂二置于 25℃ 水浴 5min。
3. 样本测定：在 96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿中加入 20 μ L 样本和 180 μ L 试剂二，混匀，立即记录 340nm 处 20s 时的吸光值 A_1 和 5min 20s 后的吸光值 A_2 ，计算 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

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 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 0.5，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下：

1. 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOGAT (nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 643 \times \Delta A \div W$$

2. 按细菌或真菌数量计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或真菌在反应体系中每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOGAT (nmol/min/10}^4 \text{ Cells)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.286 \times \Delta A$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d ：96 孔板光径，0.5cm； 10^9 ：1 mol = 10^9 nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL； T ：反应时间，5min； W ：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万个。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中光径 d ：0.5cm 调整为 d ：1cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1091 谷氨酸 (Glu) 检测试剂盒

PMK1068 硝酸还原酶(NR)检测试剂盒

PMK1069 硝酸还原酶(NR)检测试剂盒 (NADH 速率法)

PMK1074 NO 检测试剂盒

PMK1076 谷氨酰胺合成酶 (GS) 检测试剂盒

更多产品详情了解，请关注公众号：

