谷氨酰胺合成酶（GS）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1076BKM

保存：4℃保存 6 个月

规格：48T/24S 96T/48S

适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞、细菌

产品简介

谷氨酰胺合成酶（glutamine synthetase，GS；EC 6.3.1.2）是一种控制氮代谢的酶，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。在高等植物的研究中，GS 也常被定义为植物氨同化所必需的酶，人谷氨酰胺合成酶叫做 hGS。本试剂盒提供了一种简单的检测方法检测生物样本中谷氨酰胺合成酶（GS）的活性水平。其原理是 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的络合物在 540nm 处有最大吸收峰，于 540nm 测定吸光度，即可计算谷氨酰胺合成酶（GS）活力。

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	5mL	10mL	-20℃保存
试剂二	5mL	10mL	-20℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂四	7.5mL	15mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）及水浴锅
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
恒温箱、低温离心机、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；使用前，平衡到室温；4℃保存。
试剂一：即用型；使用前，平衡到室温。如有沉淀，静置 10min，取上清待用；-20℃保存。
试剂二：即用型；使用前，平衡到室温。如有沉淀，静置 10min，取上清待用；-20℃保存。
试剂三：使用时每瓶加 5mL 去离子水充分溶解待用，溶解后的试剂，分装，-20℃保存。
试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清（浆）等液体样本：直接测定。

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。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管（μL）	对照管（μL）
试剂一	180	0
试剂二	0	180
试剂三	70	70
样本	20	20
混匀，37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）准确水浴 30min		
试剂四	100	100

混匀，25℃室温静置 10min 后，8000g，25℃离心 10min，取 200μL 上清液至微量石英比色皿或 96 孔板中，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，离心以后尽快检测。

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$\Delta A_{测}$大于 1.0，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. 使用 96 孔板测定的计算公式如下

（1）按样本质量计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟使 540nm 下吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

GS（U/g 质量）=$\Delta A\times V_{反总}\div(V_{样}\div V_{样总}\times W)\div 0.005\div T=90\times\Delta A\div W$

（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分钟使 540nm 下吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

GS（U/mg prot）=$\Delta A\times V_{反总}\div(Cpr\times V_{样})\div 0.005\div T=90\times\Delta A\div Cpr$

（3）按细菌或细胞数量计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟使 540nm 下吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

GS（U/10^4 cell）=$\Delta A\times V_{反总}\div(500\times V_{样}\div V_{样总})\div 0.005\div T=0.18\times\Delta A$

（4）按液体样本体积计算：

单位定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟使 540 下吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

GS（U/mL）=$\Delta A\times V_{反总}\div V_{样}\div 0.005\div T=90\times\Delta A$

B. 使用微量比色皿进行测定的计算公式

（1）按样本质量计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟使 540nm 下吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

GS（U/g 质量）=$\Delta A\times V_{反总}\div(V_{样}\div V_{样总}\times W)\div 0.01\div T=45\times\Delta A\div W$

（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分钟使 540nm 下吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

GS（U/mg prot）=$\Delta A\times V_{反总}\div(Cpr\times V_{样})\div 0.01\div T=45\times\Delta A\div Cpr$

（3）按细菌或细胞数量计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟使 540nm 下吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

GS（U/10^4 cell）=$\Delta A\times V_{反总}\div(500\times V_{样}\div V_{样总})\div 0.01\div T=0.09\times\Delta A$

（4）按液体样本体积计算：

单位定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟使 540 下吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

GS（U/mL）=ΔA×$V_{反总}$÷$V_{样}$÷0.01÷T=45×ΔA

$V_{反总}$：反应体系总体积，270μL=0.27mL；$V_{样}$：加入样本体积，20μL=0.02mL；$V_{样总}$：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

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，并请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：

PMK1028 γ-谷氨酰半胱氨酸连接酶（GCL）检测试剂盒
PMK1029 γ-谷氨酰转肽酶(γ-GT)测定检测试剂盒
PMK1084 谷丙转氨酶/丙氨酸氨基转氨酶（GPT/ALT)检测试剂盒
PMK1085 谷草转氨酶（AST/GOT）检测试剂盒（微量法）
PMK1814 谷氨酸脱羧酶（GAD）检测试剂盒（微量法）
PMK1091 谷氨酸（Glu）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：