

组织及血液谷氨酰胺合成酶（GS）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHB1-C24	组织及血液谷氨酰胺合成酶（GS）试剂盒	24T	常量法

产品说明:

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。

试剂组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂一	液体 12 mL×1 瓶	-20℃ 保存
试剂二	液体 12 mL×1 瓶	-20℃ 保存
试剂三	粉剂×2 瓶	-20℃ 保存
试剂四	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃ 保存

溶液的配制:

试剂三: 临用前取一瓶加入5mL 蒸馏水充分溶解备用, 用不完的试剂-20℃分装可保存4 周, 避免反复冻融。

操作步骤:

一、样本处理

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。

血清 (浆) 样本: 直接检测 (若溶液呈现浑浊, 则离心取上清后再测定)。

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	400	-
试剂二	-	400

试剂三	175	175
样本	175	175
混匀, 37°C (哺乳动物) 或25°C (其他物种) 准确水浴30min		
试剂四	250	250

混匀, 静置 10min 后, 5000g, 常温离心 10min, 取全部上清液测定 540nm 处的吸光值A。ΔA=A 测定-A 对照。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反应体系中每分钟使540nm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 = 19 × ΔA

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) = ΔA × V反总 ÷ (Cpr × V样) ÷ 0.01 ÷ T = 19 × ΔA ÷ Cpr

(2) 按样本质量计算:

单位的定义: 每g组织在每mL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) = ΔA × V反总 ÷ (W × V样 ÷ V样总) ÷ 0.01 ÷ T = 19 × ΔA ÷ 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反应体系中每分钟使540nm下吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。
GS (U/10⁴ cell) = ΔA × V反总 ÷ (500 × V样 ÷ V样总) ÷ 0.01 ÷ T = 0.038 × ΔA

V 反总: 反应体系总体积, 1mL; V 样: 加入样本体积, 0.175mL; 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。