

植物谷氨酰胺合成酶（GS）检测试剂盒说明书

| 产品货号 | 产品名称 | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|------------------|------|------|
| PMHB1-C24 | 谷氨酰胺合成酶（GS）测定试剂盒 | 24T | 常量法 |
| PMHB1-C48 | | 48T | |

一、测定意义

谷氨酰胺合成酶（GS）主要存在于植物中，是生物体内氮同化的关键酶之一，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，而且谷氨酰胺也是氮的主要储存和运输形式。

二、测定原理

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。

三、试剂组成

| 试剂名称 | 试剂装量(24T) | 试剂装量(48T) | 保存条件 |
|-------------------------------------|--------------|--------------|--------|
| 提取液 | 液体 60mL×1 瓶 | 液体 60mL×1 瓶 | 4℃保存 |
| 试剂一 | 液体 12mL×1 瓶 | 液体 20mL×1 瓶 | -20℃保存 |
| 试剂二 | 液体 12mL×1 瓶 | 液体 20mL×1 瓶 | -20℃保存 |
| 试剂三 | 粉剂×1 瓶 | 粉剂×2 瓶 | -20℃保存 |
| 试剂三：用时每瓶加入 10mL 蒸馏水充分溶解备用，-20℃分装保存。 | | | |
| 试剂四 | 液体 15 mL×1 瓶 | 液体 30 mL×1 瓶 | 4℃保存 |

四、操作步骤

样本前处理

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例，旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，用蒸馏水调零。
- 2、试剂回复至常温；
- 3、操作表：

| 试剂名称 | 测定管 | 对照管 |
|------|-----|-----|
|------|-----|-----|

| | | |
|--------------------|-----|-----|
| 试剂一 (μL) | 400 | - |
| 试剂二 (μL) | - | 400 |
| 试剂三 (μL) | 175 | 175 |
| 样本 (μL) | 175 | 175 |
| 混匀, 37°C 准确水浴30min | | |
| 试剂四 | 250 | 250 |

混匀, 静置 10min 后, 5000g, 常温离心 10min, , 测定 540nm 处的吸光值 A。

$\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管需设一个对照管。

五、植物样本中谷氨酰胺合成酶活性计算

(1) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每克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。

$$GS (U/g \text{ 鲜重}) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div 0.01 \div T = 19.05 \times \Delta A \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每毫克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。

$$GS (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div 0.01 \div T = 19.05 \times \Delta A \div Cpr$$

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 175μL=175mL;

$V_{\text{反应}}$: 反应液总体积, 1mL;

$V_{\text{样总}}$: 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

六、注意事项

- 1、不同样本活性差异较大, 需要先做预实验摸索样本浓度或者取样量。

七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广, 品质可靠。