

植物谷氨酰胺合成酶（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
PMHB1-M48	植物谷氨酰胺合成酶（GS）活性检测试剂盒	48T	微量法
PMHB1-M96		96T	

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。

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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	液体120 mL×1 瓶	4-8℃保存
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	液体 20 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	液体 20 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂三	粉剂×2 瓶	粉剂×4 瓶	-20℃保存
试剂三：用时每瓶加入 5mL 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	4-8℃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/酶标仪预热 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（μL）	测定管	对照管
试剂一	160	

试剂二		160
试剂三	70	70
样本	70	70
混匀, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其他物种) 准确水浴 30min		
试剂四	100	100

混匀, 静置 10min 后, 5000g, 常温离心 10min, 取 200 μ L 上清液至微量玻璃比色皿或 96 孔板中, 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

A、用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下

(1) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每 g 组织在反应体系中每 min 使 540nm 下吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

$$GS (U/g \text{ 质量}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div 0.01 \div T = 19 \times \Delta A \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每 min 使 540nm 下吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

$$GS (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div 0.01 \div T = 19 \times \Delta A \div Cpr$$

B、用 96 孔板测定的计算公式如下

(1) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每 g 组织在反应体系中每 min 使 540nm 下吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$GS (U/g \text{ 质量}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div 0.005 \div T = 38 \times \Delta A \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每 min 使 540nm 下吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$GS (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div 0.005 \div T = 38 \times \Delta A \div Cpr$$

V 反总: 反应体系总体积, 400 μ L=0.4mL;

V 样: 加入样本体积, 70 μ L=0.07mL;

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

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。
- 2、本反应显色2h较为稳定, 在此时间内比色较好。

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。