

谷氨酰胺合成酶(GS)试剂盒

- 【产品简介】 ◆谷氨酰胺合成酶(GS, EC6. 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, 植物吸收的无机氮经硝酸还原酶(NR)和亚硝酸还原酶(NIR)还原成 NH_4^+ 后, 通过谷氨酰胺合成酶(GS)参与的 GS/GOGAT途径才能进行氮素的同化和利用。
- ◆谷氨酰胺合成酶(GS)在ATP和 Mg^{2+} 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, 在酸性条件下形成的络合物在540nm 处有最大吸收峰, 进而得到谷氨酰胺合成酶(GS)的酶活性大小。

【货号】 TPL005

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
提取液	液体30mL×1瓶	4℃	
试剂一	粉体mg×2瓶	4℃	用前甩几下使粉体落入底部, 每瓶加9mL的试剂五充分溶解(立即取出4.5mL 已溶好的试剂一液体至一瓶试剂二中, 则余4.5mL 试剂一液体备用)。若已溶好的试剂一液体存放一段时间后有沉淀析出, 可先37℃预热10min后取上清液直接检测即可。
试剂二	粉体mg×2瓶	4℃	用前甩几下使粉体落入底部, 取4.5mL已经溶解好的试剂一溶液至一瓶试剂二中混匀溶解备用。
试剂三	粉剂mg×2瓶	-20℃	用前甩几下使试剂落入底部, 每瓶再加入3.5mL蒸馏水充分溶解待用, 仍-20℃保存。
试剂四	液体12mL×1瓶	4℃	
试剂五	液体20mL×1瓶	4℃	

【保存条件】 4℃保存, 有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备：

①组织样本：称取约0.1g 组织，加入1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

注：若增加样本量，可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10 的比例进行提取

②细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取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，300W，超声3s，间隔 7s，总时间3min）；12000rpm，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

注：若增加样本量，按照细菌/细胞数量(10⁴个):提取液体积(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

2、上机测定：

①可见分光光度计预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。

②在EP管中依次加入：

试剂名称(uL)	测定管	对照管
样本	200	200
试剂一		320
试剂二	320	
试剂三	120	120
混匀，37℃水浴30min		
试剂四	200	200
混匀，反应2min，8000rpm，4℃离心10min，全部上清液转移至1ml玻璃比色皿中，于540nm处分别读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个测定管须设一个对应的对照管)。		

3、结果计算

①按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白在每分钟内使A540吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

$$GS(U/mg \text{ prot}) = \Delta A \div (Cpr \times V1) \div 0.01 \div T = 16.7 \times \Delta A \div Cpr$$

②按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织在每分钟内使A540吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

$$GS(U/g \text{ 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \div 0.01 \div T = 16.7 \times \Delta A \div W$$

③按细菌或细胞密度计算：

单位定义：每百万细菌或细胞在每分钟内使A540吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

$$GS(U/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \div 0.01 \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.033 \times \Delta A$$

V--提取液体积, 1mL; V1--加入样本体积, 0.2mL;
500--细胞数量, 万; T--反应时间, 30min;
Cpr--样本蛋白质浓度, mg/mL; W--样本质量, g;

- 【注意事项】**
- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
 - 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
-