

CheKine™ 谷氨酸合成酶（GOGAT）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB3040

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动物、植物组织, 细胞 (菌), 血清 (浆)
	保质期: 4℃, 避光保存 12 个月

01 背景与原理

谷氨酸合成酶 (GOGAT, EC 1.4.1.13) 主要存在于原核生物、酵母菌及高等植物非绿色组织的前质体中, 和谷氨酰胺合成酶 (GS) 共同构成 GS/GOGAT 循环, 参与氨同化的调控。

本试剂盒检测原理是 GOGAT 以 NADH 为电子供体, 催化谷氨酰胺的氨基转移到 α -酮戊二酸形成两分子的谷氨酸, NADH 在 340 nm 吸光度的下降速率可以反映 GOGAT 活性大小。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	60 mL	120 mL	4℃
Reagent II	12 mL	24 mL	4℃
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×2 vials	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	PBS	清洗样本用
其他	匀浆器 (组织样本)、超声破碎仪、恒温箱、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。由于 Reagent I 中含有一定浓度的蛋白（约 10 mg/mL），所以在测定样本蛋白浓度时，需要减去 Reagent I 本身的蛋白含量。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，测定过程中，样本和所有试剂在冰上放置，以免变性和失活。因通过单位时间内吸光值的变化计算酶活，不推荐同时测多个样本。

- 组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Reagent I 冰浴匀浆。8000 g, 4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。
- 细胞或细菌：收集 5×10^6 细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清液，加入 1 mL Reagent I，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 8000 g, 4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- 血清（浆）：直接检测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. Working Solution 的配制：临用前配制，取一瓶 Reagent III，向其中加入 10.8 mL Reagent II，充分混匀待用，现配现用，当天用完。
3. 检测体系配制：在 96 孔 UV 板中按照如下方式操作：

试剂	测定孔 (μL)
样本	20
Working Solution	180

4. 吸光度检测：迅速混匀，记录 340 nm 处 20 s 时的吸光值 A_1 和 5 min 20 s 后的吸光值 A_2 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

2. GOGAT 活性的计算

● 按样本质量计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 为一个酶活力单位。

$$\text{GOGAT (U/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \div V_{\text{样}} \times V_{\text{样}}) \div T = 643 \times \Delta A \div W$$

● 按细胞或细菌数量计算

单位的定义：每 10^4 个细胞或细菌每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 为一个酶活力单位。

$$\text{GOGAT (U/10}^4\text{)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (N \div V_{\text{样}} \times V_{\text{样}}) \div T = 643 \times \Delta A \div N$$

● 按液体样本体积计算

单位的定义：每 mL 液体每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 为一个酶活力单位。

$$\text{GOGAT (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 643 \times \Delta A$$

● 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 蛋白每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 为一个酶活力单位。

$$\text{GOGAT (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 643 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.2 mL = 2×10^{-4} L； $V_{\text{样}}$ ：加入 Reagent I 体积，1 mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02 mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d ：96 孔 UV 板直径，0.5 cm； Cpr ：样本蛋白浓度，mg/mL； T ：反应时间，5 min； W ：样本质量，g； N ：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细菌数量为 5×10^6 ， $N=500$ ）； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 10^9 nmol。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 小鼠肝脏，按上述步骤检测，使用 96 孔 UV 板测得 $\Delta A = A_1 - A_2 = 0.94 - 0.871 = 0.069$ ，按样本质量计算活性得：GOGAT (U/g) = $643 \times \Delta A \div W = 443.67$ U/g。

08 FAQ

● 检测得到的样本 ΔA 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A > 0.5$ ，样本需用 Reagent I 适当进行稀释后，再进行实验，或减少提取用样本量。如果样本的 $\Delta A < 0.005$ ，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB3041	CheKine™ 谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒（微量法）
KTB3050	CheKine™ 水土中亚硝酸盐含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 谷氨酸合成酶（GOGAT）活性检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB3040)

