

CheKine™ 谷氨酰胺酶（GLS）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB3043

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本：动植物组织、细菌和细胞、血清（浆）或其他液体
	保质期：4℃，避光保存 6 个月

01 背景与原理

谷氨酰胺酶（glutaminase, GLS, EC 3.5.1.2）主要存在于高等动物和某些细菌以及植物根中，催化谷氨酰胺水解成谷氨酸和氨，在氮素代谢中具有重要调控作用，尤其是调节游离氨含量和尿素代谢。

本试剂盒检测原理是 GLS 催化谷氨酰胺水解成 L-谷氨酸和氨，利用奈氏试剂检测氨增加的速率，即可计算其酶活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	70 mL	70 mL×2	4℃
Reagent II	Powder×2 vials	Powder×2 vials	4℃，避光保存
Reagent III	35 mL	70 mL	4℃，避光保存
Reagent IV	2.5 mL	5 mL	4℃
Reagent V	1.5 mL	3 mL	4℃
Reagent VI	1.5 mL	3 mL	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃

*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 420 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS、去离子水	清洗样本/配制试剂、标准品用
其他	匀浆器（组织样本）、水浴锅、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

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）。
- 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）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 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；有结晶析出为正常现象，恢复室温后，混匀使用即可
Working Reagent II	临用前配制；48 T 每瓶 Reagent II 加入 12.5 mL 去离子水，96 T 每瓶 Reagent II 加入 25 mL 去离子水，充分溶解待用	现配现用
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存；有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Reagent IV	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；有腐蚀性，建议在通风橱进行实验
Reagent V	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent VI	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存；有毒性，建议在通风橱进行实验
100 μmol/mL Standard	临用前配制；每瓶加入 1 mL 去离子水，充分溶解，即 100 μmol/mL 氨标准品	未用完的试剂 4℃保存 1 个月

05-1-2 标准品配制

使用 100 $\mu\text{mol/mL}$ 氨标准品，按照下表所示，进一步稀释标准品。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	标准品 (μL)	去离子水 (μL)	浓度 (nmol/mL)
1	10 μL of 100 $\mu\text{mol/mL}$ Standard	990	1000
2	500 μL of 1000 nmol/mL	500	500
3	500 μL of 500 nmol/mL	500	250
4	500 μL of 250 nmol/mL	500	125
5	500 μL of 125 nmol/mL	500	62.5
6	500 μL of 62.5 nmol/mL	500	31.25
7	500 μL of 31.25 nmol/mL	500	15.625
空白	0	500	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在 -80°C 保存 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- 动植物组织：称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Reagent I，冰浴匀浆，8000 g， 4°C 离心 10 min，取上清，置冰上待测。
- 细菌或细胞：收集 5×10^6 个细菌或细胞，用冷 PBS 清洗细菌或细胞，800 g 离心 2 min，弃上清液。加入 1 mL Reagent I，冰浴超声波破碎细菌或细胞 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），8000 g， 4°C 离心 10 min，取上清，置冰上待测。
- 血清（浆）等液体样本：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 420 nm。
2. 酶促反应：在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作：（对照管只需测定 1-2 次）

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)
样本	25	0
去离子水	0	25
Reagent I	100	100
Working Reagent II	400	400
混匀， 37°C 孵育 1 h		
Reagent III	525	525

3. 混匀，8000 g， 25°C 离心 10 min，取上清液。
4. 显色反应：在 96 孔板中按照如下方式依次操作：（空白孔和标准孔只需测定 1-2 次）

试剂	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)	标准孔 (μL)	空白孔 (μL)
上清液	130	130	0	0
Standard	0	0	130	0
去离子水	0	0	0	130
Reagent IV	30	30	30	30
Reagent V	20	20	20	20
Reagent VI	20	20	20	20

充分混匀，室温静置 15 min

5. 吸光度检测：于 420 nm 处测定吸光值，分别记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 和 $A_{\text{空白}}$ 。

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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 y 值 (nmol/mL)。

3. GLS 活性的计算：

● 按样本质量计算：

单位的定义：每克样本每分钟催化谷氨酰胺生成 1 nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS (U/g)} = y \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.7y \div W$$

● 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每毫克蛋白每分钟催化谷氨酰胺生成 1 nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS (U/mg prot)} = y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 0.7y \div \text{Cpr}$$

● 按细菌或细胞数量计算：

单位的定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化谷氨酰胺生成 1 nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS (U/10}^4\text{)} = y \times V_{\text{反应}} \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.7y \div N$$

● 按血清（浆）体积计算：

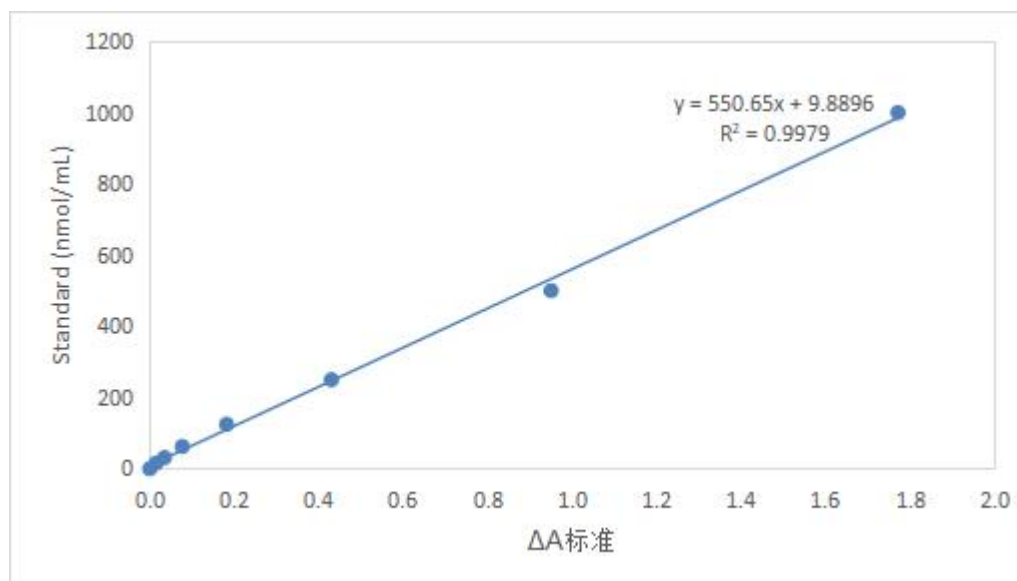
单位的定义：每毫升液体每分钟催化谷氨酰胺生成 1 nmol 氨为一个酶活力单位。

$$\text{GLS (U/mL)} = y \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.7y$$

$V_{\text{反应}}$ ：酶促反应体系总体积，1.05 mL； $V_{\text{样}}$ ：加入的样本体积，0.025 mL； $V_{\text{样总}}$ ：提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，60 min；W：样本质量，g；N：细菌或细胞数量，以 10^4 为单位（例如细菌数量为 5×10^6 ，N=500）。

07 结果展示

典型标准曲线：



示例-1: 取 0.1 g 小鼠肾脏使用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = 0.349 - 0.149 = 0.2$, 代入方程得 $y = 120.02$, 按样本质量计算得: $\text{GLS (U/g)} = y \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.7y \div W = 840.14 \text{ U/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 1000 \text{ nmol/mL}$ 的 $\Delta A_{\text{标准}}$, 样本需用 Reagent I 适当稀释或减少提取用样本量, 重新进行测定。

如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.02$, 可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB4010	CheKine™ 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性检测试剂盒 (微量法)
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)
KTB3051	CheKine™ 食品中亚硝酸盐含量检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 谷氨酰胺酶（GLS）活性检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB3043)

