CheKine™ 谷氨酰胺合成酶（GS）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB3042　　规格: 48 T/24 S　96 T/48 S　　批号：见产品标签

	适用样本：动植物组织、细胞或细菌、血清（浆）或其他液体
	保质期：4℃，保存 12 个月

01 背景与原理

谷氨酰胺合成酶（GS, EC 6.3.1.2）主要存在于植物中，是生物体内氨同化的关键酶之一，能够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。

本试剂盒检测原理是 GS 在 ATP 和 Mg^{2+}存在时，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的络合物在 540 nm 处有最大吸收峰。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	30 mL	60 mL	4℃
Reagent Ⅰ	10 mL	20 mL	4℃
Reagent Ⅱ	3 mL	6 mL	4℃
Reagent Ⅲ	6 mL	12 mL	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 540 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水、PBS	配制对照检测体系及清洗样本
其他	匀浆器（组织样本）、超声破碎仪（细胞或细菌）、恒温箱、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：KTD3002 的蛋白质定量试剂盒（Bradford 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）。
- 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
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
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℃保存

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℃保存 1 个月。

- **动植物组织：**称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，12000 g，4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。
- **细胞或细菌：**收集经过 PBS 清洗后的 5×10^6 个细胞或细菌，加入 1 mL Extraction Buffer，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），12000 g，4℃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 540 nm。

2. **检测体系配制：**在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作：（每个测定管需设一个对照管）

试剂	测定管（μL）	对照管（μL）
样本	70	70
Reagent Ⅰ	160	160
Reagent Ⅱ	70	0
去离子水	0	70
充分混匀，37℃反应 30 min		
Reagent Ⅲ	100	100

3. 充分混匀，12000 g，4℃离心 10 min。

4. **吸光度检测：**取 200 μL 上清液至 96 孔板中，于 540 nm 处测定吸光值，分别记为 $A_{测定}$和 $A_{对照}$。

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]>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$\Delta A=A_{测定}-A_{对照}$。

2. GS 活性的计算：

- 按样本质量计算：

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

$GS\ (U/g)=\Delta A\times V_{反总}\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\div0.005\div T$**$=38.1\times\Delta A\div W$**

- 按样本蛋白浓度计算：

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

$GS\ (U/mg\ prot)=\Delta A\times V_{反总}\div(Cpr\times V_{样})\div0.005\div T$**$=38.1\times\Delta A\div Cpr$**

- 按细胞或细菌数量计算：

单位的定义：每 10^6 个细菌或细胞在反应体系中每 min 使 540 nm 下吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$GS\ (U/10^6)=\Delta A\times V_{反总}\div(N\times V_{样}\div V_{样总})\div0.005\div T$**$=38.1\times\Delta A\div N$**

- 按血清（浆）体积计算：

单位的定义：每 mL 血清（浆）在反应体系中每 min 使 540 nm 下吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$GS\ (U/mL)=\Delta A\times V_{反总}\div V_{样}\div0.005\div T$**$=38.1\times\Delta A$**

$V_{反总}$：反应体系总体积，0.4 mL；$V_{样}$：加入反应体系中样本体积，0.07 mL；$V_{样总}$：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，30 min；W：样本鲜重，g；N：细胞或细菌数量，以 10^6 为单位（例如细菌数量为 5×10^6，N=5）。

07 结果展示

示例：取 0.1 g 黄豆使用 96 孔板测得 ΔA=0.148-0.088=0.06，按样本质量计算含量得：$GS\ (U/g)=38.1\times\Delta A\div W=22.86$ U/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本ΔA 过高或者过低怎么办?**

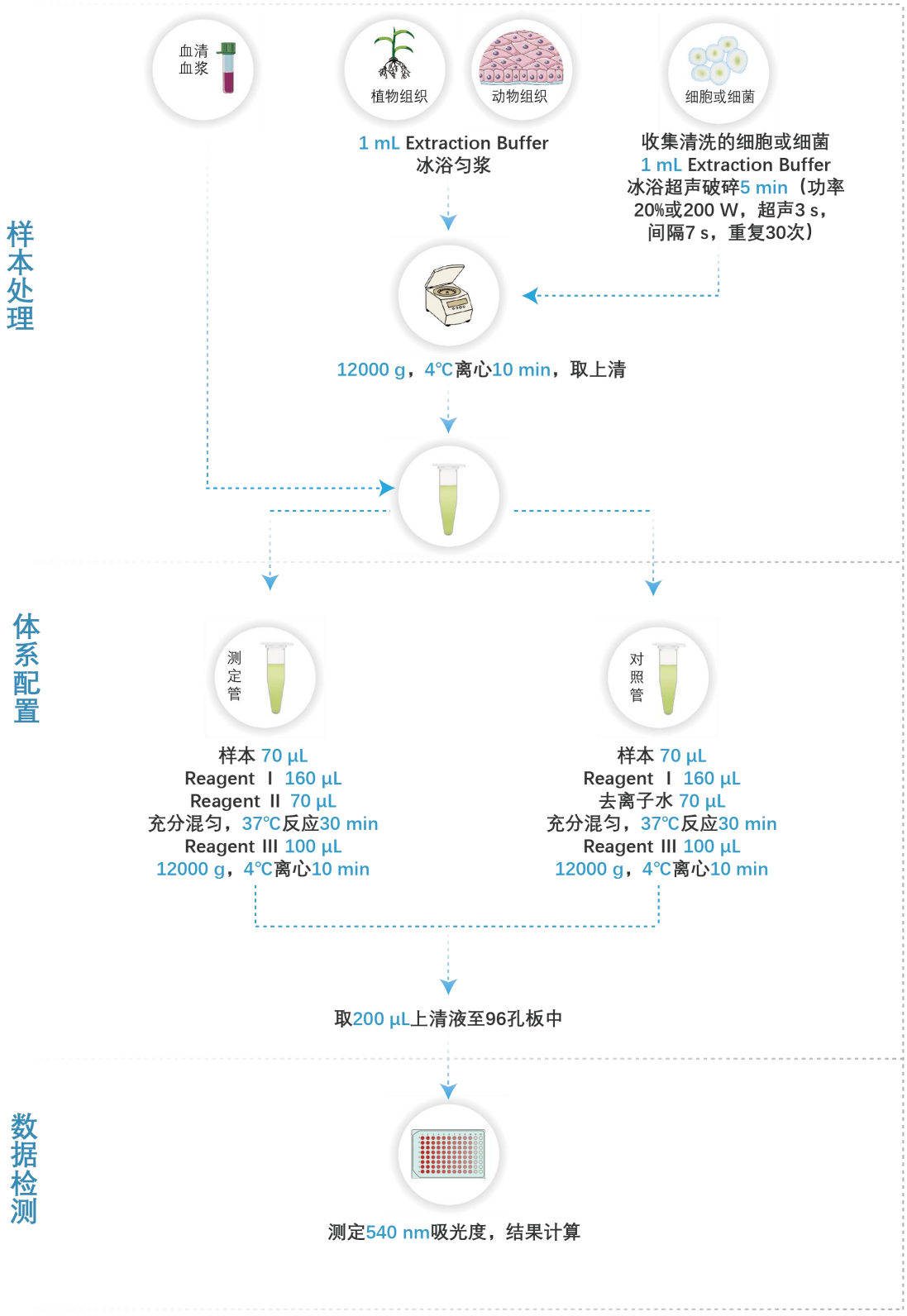
如果样本ΔA>1.0，样本需用 Extraction Buffer 适当稀释或减少提取用样本量，重新进行测定。如果样本的ΔA<0.01，可适当提高样本量。如果ΔA 始终低于 0.01 或为负值，说明样本中基本不含 GS 或其活性极低。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1015	CheKine™ α-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 谷氨酰胺合成酶（GS）活性检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB3042）



V1.0