

谷氨酸合成酶（GOGAT）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
PMHC6-C24	谷氨酸合成酶（GOGAT）活性检测试剂盒	24T	常量法
PMHC6-C48		48T	

一、测定意义：

植物谷氨酸合成酶是植物氮代谢的关键酶，参与谷氨酸的合成，进而影响氨基酸和蛋白质的生成。对揭示植物氮代谢机制、评估植物生长发育潜力、逆境胁迫起着至关重要的作用。

二、测定原理：

谷氨酸合成酶以 NADH 为还原力供体，催化谷氨酰胺生成谷氨酸。

通过监测 NADH 的消耗速率间接反映谷氨酸合成酶的酶活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
试剂三	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
试剂四	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存

工作液的配制：取试剂二、试剂三、试剂四粉剂各一支加入 30mL 试剂一中充分溶解，现用现配，可分装-20°保存一周，避免反复冻融。

四、操作步骤：

样本前处理

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（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），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，置冰上待测。

测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
2. 测定前将工作液平衡至常温；

3. 操作表（在石英比色皿中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管
样本 (μL)	100
工作液 (μL)	900

迅速混匀，25°下，在波长 340m 处读取 30s 时吸光值 A1 和 5min30s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{25min30s}}$ 。

五、谷氨酸合成酶（GOGAT）活性计算：

1、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟消耗 1nmol NADH 为一个酶活力单位。

$$\text{计算公式: GOGAT (U/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

2、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每分钟消耗 1nmol NADH 为一个酶活力单位。

$$\text{计算公式: GOGAT (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 321.54 \times \Delta A \div Cpr$$

ϵ : NADH 摩尔消光系数: $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d: 比色皿光径, 1cm;

$V_{\text{反总}}$: 反应总体积, $0.1\text{mL} = 1 \times 10^{-4} \text{ L}$; $V_{\text{样}}$: 反应中样本体积, 0.1mL ;

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL ; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL ; W, 样本质量, g; T: 反应时间, 5min; 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

六、注意事项：

1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。
2. ΔA 如果小于 0.005，可将反应时间延长，计算时除以相应的反应时间即可；如果高于 0.5 可将样本用提取液进行稀释，计算时乘以相应的稀释倍数即可。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司
地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】**【说明书核准及修改日期】**

核准日期：2025 年 4 月 7 日
修改日期：2025 年 4 月 7 日