

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-M48	谷氨酸合成酶（GOGAT） 活性检测试剂盒	48T	微量法
PMHC6-M96		96T	

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、逆境胁迫响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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×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. 酶标仪预热 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 96 孔 UV 板中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管
样本（μL）	20
工作液（μL）	180
迅速混匀，25°下，在波长 340nm 处读取 30s 时吸光值 A1 和 5min30s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A = A1_{测定} - A2_{测定}$ 。	

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。

计算公式： $GOGAT (U/g) = [\Delta A \times V_{反应} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \div V_{样总} \times W)$
 $\div T = 535.9 \times \Delta A \div W$

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。

计算公式： $GOGAT (U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{反应} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \times Cpr)$
 $\div T = 535.9 \times \Delta A \div Cpr$

ϵ ：NADH 摩尔消光系数：6.22×10³ L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.6cm；V_{反应}：反应总体积，0.2×10⁻³L；V_样：反应中样本体积，0.02mL；V_{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；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

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