

## 谷氨酰胺合成酶（GS）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
PMHE3-M48	植物谷氨酰胺合成酶(GS) 活性检测试剂盒	48T	微量法
PMHE3-M96		96T	

### 一、测定意义：

谷氨酰胺合成酶（GS）主要存在于植物中，是生物体内氨同化的关键酶之一，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。

### 二、测定原理：

GS 在 ATP 和 Mg<sup>2+</sup>存在下，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红色的络合物；该络合物在 540nm 处有最大吸收峰，可用分光光度计测定。

### 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 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×1 瓶	-20℃保存
<b>试剂三的配制：</b> 用时每瓶加入 10mL 蒸馏水充分溶解备用，-20℃分装保存。			
试剂四	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存

### 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，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，取上清液置冰上待测。

#### 测定步骤

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零；
2. 试剂回复至常温；
3. 操作表（在离心管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管
上清液 (μL)	60	60
试剂一 (μL)	160	-
试剂二 (μL)	-	160
试剂三 (μL)	60	60
混匀，37℃准确水浴 30min		
试剂四 (μL)	120	120
混匀，静置 10min 后，5000g，常温离心 10min，取 200μL 于 96 孔板中，测定 540nm 处的吸光值，记为 A <sub>测定</sub> ，A <sub>对照</sub> ，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注意：每个测定管需设一个对照管。		

### 五、谷氨酰胺合成酶（GS）活性计算：

#### 1、按样本鲜重计算：

**单位定义：**每克组织在反应体系中每分钟使 540nm 下吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**GS(U/g)= $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div 0.005 \div T = 44.44 \times \Delta A \div W$

#### 2、按样本蛋白浓度计算：

**单位定义：**每毫克组织蛋白在反应体系中每分钟使 540nm 下吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**GS (U/mg prot) = $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}})$

$$\div 0.005 \div T = 44.44 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

V<sub>样</sub>：加入样本体积，60μL=0.06mL；V<sub>反总</sub>：反应液总体积，0.4mL；

V<sub>样总</sub>：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，30min；C<sub>pr</sub>：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

### 六、注意事项：

1、不同样本活性差异较大，需要先做预实验摸索样本浓度或者取样

量；

2、本反应显色 2h 较为稳定，在此时间内比色较好；

3、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以

实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作

步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。

#### 【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