

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，是生物体内氮同化的关键酶之一，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，而且谷氨酰胺也是氮的主要储存和运输形式。

二、测定原理：

GS 在 ATP 和 Mg^{2+} 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
试剂三的配制：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（ μ L）	60	60
试剂一（ μ L）	160	-
试剂二（ μ L）	-	160
试剂三（ μ L）	60	60
混匀，37℃准确水浴 30min		
试剂四（ μ L）	120	120
混匀，静置 10min 后，5000g，常温离心 10min，取 200 μ L 于 96 孔板中，测定 540nm 处的吸光值，记为 $A_{\text{测定}}$ ， $A_{\text{对照}}$ ，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： $GS(U/g) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div 0.005 \div T = 44.44 \times \Delta A \div W$

- 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： $GS(U/mg \text{ prot}) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (Cpr \times V_{\text{样}})$

$\div 0.005 \div T = 44.44 \times \Delta A \div Cpr$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，60 μ L=0.06mL； $V_{\text{反应}}$ ：反应液总体积，0.4mL；

$V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，30min；Cpr：样本蛋白质浓度，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