

# 谷氨酰胺酶 (GLS) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1072

保存: 4°C 避光保存 6 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清 (浆)

## 产品简介

GLS (EC 3.5.1.2) 主要存在于高等动物和某些细菌以及植物根中, 是酰胺基水解酶, 催化谷氨酰胺水解为谷氨酸和氨, 在氮素代谢中具有重要调控作用, 尤其是调节游离氨含量和尿素代谢。本试剂盒提供了一种简单的比色法来检测 GLS 活性。其原理是 GLS 催化谷氨酰胺水解成 L-谷氨酸和氨, 利用奈氏试剂检测氨增加的速率, 即可计算其酶活性。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	60mL	120mL	4°C 保存
试剂二	20mL	40mL	4°C 保存
试剂三	30mL	60mL	4°C 保存
试剂四	2.5mL	5mL	4°C 保存
试剂五	1.5mL	3mL	4°C 保存
试剂六	1.5mL	3mL	4°C 避光保存
标准品	1mL	1mL	4°C 保存

## 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 420nm 处的吸光值) 及恒温培养箱

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器 (如果是组织样本)

## 试剂准备

**注意: 小管试剂开盖前, 请先低速离心。**

试剂一: 即用型; 4°C 保存。

试剂二: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

试剂三: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

试剂四: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

试剂五: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

试剂六: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 避光保存。

标准品: 含 8 μmol/mL 氨氮标准液。

标准曲线设置: 按下表所示用去离子水将 8 μmol/mL 标准品稀释为 0.8、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 μmol/mL 的标准溶液。

## 产品说明书

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

	标准品体积	去离子水体积 (μL)	浓度 (μmol/mL)
Std. 1	80μL 8 μmol/mL	720	0.8
Std. 2	400μL of Std. 1	400	0.4
Std. 3	400μL of Std. 2	400	0.2
Std. 4	400μL of Std. 3	400	0.1
Std. 5	400μL of Std. 4	400	0.05
Std. 6	400μL of Std. 5	400	0.025
Std. 7	400μL of Std. 6	400	0.0125

### 样本制备

组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 试剂一，冰浴匀浆，转移到 1.5mLEP 管中。8,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

细菌或细胞：收集 500 万细菌或细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗，离心后弃上清，加入 1mL 试剂一，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），转移到 1.5mL EP 管中。8,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

液体样本：直接检测。

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。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

### 实验步骤

- 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 420nm，可见光分光光度计去离子水调零。
- 酶促反应（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管 (μL)	对照管 (μL)
样本	25	25
去离子水	0	400
试剂一	100	100
试剂二	400	0
混匀，放入 37℃孵育 1h		
试剂三	525	525

混匀，8,000g，25℃离心 10 min；取上清液

- 测氨量（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)
上清液	0	0	130	130
标准品	0	130	0	0
去离子水	130	0	0	0

## 产品说明书

试剂四	30	30	30	30
试剂五	20	20	20	20
试剂六	20	20	20	20

充分混匀，室温静置 15min，在 420nm 处读取吸光值。空白孔记为  $A_{空}$ ，标准孔记为  $A_{标}$ ，测定孔记为  $A_{测}$ ，对照孔记为  $A_{对}$ 。计算  $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{对}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$ 。对照、空白和标准曲线只需测定一次。

**注意：**实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。 $\Delta A_{测}$  小于 0.001 可适当加大样本量。如果  $\Delta A_{测}$  大于 1.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以最终稀释倍数。

### 结果计算

#### 1. 标准曲线绘制：

以标准溶液浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ ) 为 y 轴， $\Delta A_{标}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

将  $\Delta A_{测}$  代入公式计算出样本浓度 y ( $\mu\text{mol/mL}$ )。

#### 2. 样本 GLS 活性计算

##### 1) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化谷氨酰胺生成  $1\mu\text{mol}$  氨定义为一个酶活力单位 U。

GLS 活力 ( $\text{U/g 鲜重}$ ) =  $42 \times y \times V_{反总} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 14.7y \div W$

##### 2) 按液体样本体积计算：

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟催化谷氨酰胺生成  $1\mu\text{mol}$  氨定义为一个酶活力单位 U。

GLS 活力 ( $\text{U/mL}$ ) =  $42 \times y \times V_{反总} \div V_{样} \div T = 14.7y$

##### 3) 按细菌数量计算：

单位的定义：每 1 万个细菌在反应体系中每分钟催化谷氨酰胺生成  $1\mu\text{mol}$  氨定义为一个酶活力单位 U。

GLS 活力 ( $\text{U}/10^4 \text{ cell}$ ) =  $42 \times y \times V_{反总} \div (500 \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 0.0294y$

##### 4) 按样本蛋白浓度计算：

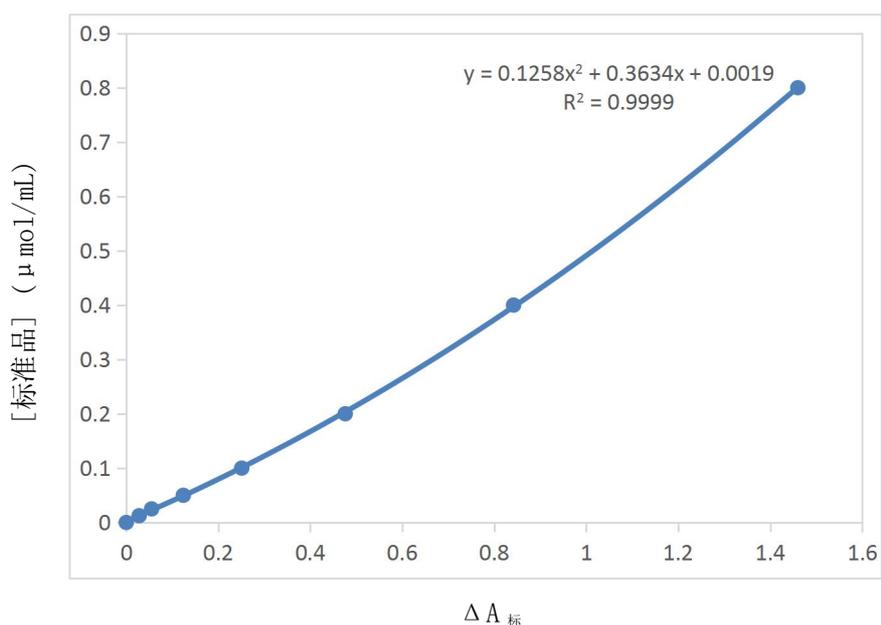
单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化谷氨酰胺生成  $1\mu\text{mol}$  氨定义为一个酶活力单位。

GLS 活力 ( $\text{U/mg prot}$ ) =  $42 \times y \times V_{反总} \div (Cpr \times V_{样}) \div T = 14.7y \div Cpr$

42：样本在测氨量前的稀释倍数， $1050\mu\text{L}/25\mu\text{L}=42$ ； $V_{反总}$ ：反应体系总体积：0.525mL； $V_{样}$ ：加入反应体系中样本体积，0.025mL； $V_{样总}$ ：加入试剂一体积，1mL；T：反应时间，60min；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL。

### 结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线



## 产品说明书

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK1069 硝酸还原酶(NR)检测试剂盒 (NADH 速率法/微量法)

PMK1071 谷氨酸合成酶 (GOGAT) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1073 谷氨酸脱氢酶 (GDH) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1078 植物铵态氮检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

