

谷氨酰胺酶（GLS）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC1450

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 70 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂二 A	液体 1 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二 B	液体 4 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	常温保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

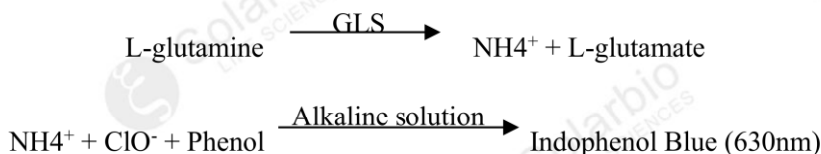
溶液的配制：

- 1、提取液：若有结晶析出可 40℃加热或者超声溶解；
- 2、试剂一：临用前加入 10 mL 蒸馏水充分溶解待用，溶解后-20℃保存 2 周，避免反复冻融；
- 3、试剂二：临用前将试剂二 A 倒入试剂二 B 中混匀（A:B=1：4 比例），2-8℃保存 4 周；或者根据样本量，按照体积比试剂二 A：试剂二 B=1:4 现配现用；
- 4、标准品：10 μmol/mL 氮标准液。
- 5、0.3125 μmol/mL 标准溶液的制备：临用前取 25 μL 10 μmol/mL 氮标准液和 775 μL 提取液混合得 0.3125 μmol/mL 的标准溶液备用。

产品说明：

谷氨酰胺酶（L-glutamine amidohydrolase, EC3.5.1.2）主要存在于高等动物和某些细菌以及植物根中，催化谷氨酰胺水解成谷氨酸和氨，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。

本试剂盒利用靛酚蓝比色法测定 GLS 催化谷氨酰胺生成的氨来计算其酶活性。



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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、台式离心机、水浴锅、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）





1. 组织：按照质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5-10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL提取液），冰上匀浆后于4℃，12000g离心15min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为500-1000：1的比例（建议500万个细胞加入1mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3s，间隔7s，总时间3min）；然后4℃，12000g 离心15 min，取上清置于冰上待测。
3. 液体样本：直接检测，若有浑浊可离心后测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至630nm，蒸馏水调零。
2. 根据样本量取部分提取液和试剂一37℃预热10min。
3. 样本测定：（在1.5mL EP管中加入下列试剂）

试剂名称（μL）	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	80	80	-	-
提取液	-	320	-	400
试剂一	320	-	-	-
混匀，37℃水浴1小时			-	-
标准品	-	-	400	-
试剂二	80	80	80	80
试剂三	60	60	60	60
蒸馏水	460	460	460	460

混匀，常温放置 30min，630nm 处读取吸光值 A，分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管，计算 $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}$ ， $\Delta A \text{ 标准} = A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}$ 。空白管和标准管只需测 1-2 次。（注意：试剂二和试剂三务必按照顺序依次加入，也不可混成工作液加样）

三、GLS 酶活性计算

1、按样本蛋白浓度计算

单位定义：37℃下每 mg 蛋白质每小时催化谷氨酰胺生成 1μmol NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

$$GLS (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 酶促} \div (V \text{ 样本} \times C_{pr}) \div T = 1.5625 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div C_{pr}$$

2、按样本质量计算

单位定义：37℃下每 g 组织每小时催化谷氨酰胺生成 1μmol NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

$$GLS (U/g \text{ 质量}) = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 酶促} \div (W \div V \text{ 提取} \times V \text{ 样本}) \div T = 1.5625 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div W$$

3、按细胞数量计算

单位定义：37℃下每万个细胞每小时催化谷氨酰胺生成 1μmol NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

$$GLS (U/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 酶促} \div (N \div V \text{ 提取} \times V \text{ 样本}) \div T = 1.5625 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div N$$

4、按液体体积计算：

单位定义：37℃下每 mL 液体每小时催化谷氨酰胺生成 1μmol NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

$$GLS (U/mL) = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 酶促} \div V \text{ 样本} \div T = 1.5625 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准}$$

C 标准：标准液浓度，0.3125μmol/mL；V 酶促：酶促反应体积，0.4mL；V 提取：加入提取液体积，1mL；V 样本：上清液体积，0.08mL；T：反应时间，1h；C_{pr}：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞数量，以万计。



注意事项:

- 1、当 ΔA 大于 0.7 时，建议将上清液用提取液进一步稀释后测量，计算时乘以稀释倍数。
- 2、试剂二配置后尽快使用，若发现变色则不能再用。

相关发表文献:

- [1] Mai Z, Zhong J, Zhang J, Chen G, Tang Y, Ma W, Li G, Feng Z, Li F, Liang XJ, Yang Y, Yu Z. Carrier-Free Immunotherapeutic Nano-Booster with Dual Synergistic Effects Based on Glutaminase Inhibition Combined with Photodynamic Therapy. *ACS Nano*. 2023 Jan 3. doi: 10.1021/acsnano.2c11037. Epub ahead of print. PMID: 36595443.
- [2] Li Z, Li X, Lu Y, Zhu X, Zheng W, Chen K, Liu S, Wu J, Guan W. Improved Photodynamic Therapy Based on Glutaminase Blockage via Tumor Membrane Coated CB-839/IR-780 Nanoparticles. *Small*. 2023 Oct 24:e2305174. doi: 10.1002/sml.202305174. Epub ahead of print. PMID: 37875654.
- [3] Wu M, Wang Q, Chen S, Zhou Z, Li J, Sun H, Liu J, Wang G, Zhou F, Sun M. Metabolic intervention liposome for targeting glutamine-addiction of breast cancer. *J Control Release*. 2022 Oct;350:1-10. doi: 10.1016/j.jconrel.2022.07.034. Epub 2022 Aug 13. PMID: 35907591.
- [4] Chu G, Wang Q, Song C, Liu J, Zhao Y, Lu S, Zhang Z, Jin C, Gao M. *Platymonas helgolandica*-driven nitrogen removal from mariculture wastewater under different photoperiods: Performance evaluation, enzyme activity and transcriptional response. *Bioresour Technol*. 2023 Mar;372:128700. doi: 10.1016/j.biortech.2023.128700. Epub 2023 Feb 2. PMID: 36738978.
- [5] Huang W, Wang Z, Wang G, Li K, Jin Y, Zhao F. Disturbance of glutamate metabolism and inhibition of CaM-CaMKII-CREB signaling pathway in the hippocampus of mice induced by 1,2-dichloroethane exposure. *Environ Pollut*. 2022 Oct 1;310:119813. doi: 10.1016/j.envpol.2022.119813. Epub 2022 Jul 19. PMID: 35868470.

参考文献:

- [1] Mahajan R V, Saran S, Kameswaran K, et al. Efficient production of L-asparaginase from *Bacillus licheniformis* with low-glutaminase activity: optimization, scale up and acrylamide degradation studies[J]. *Bioresource technology*, 2012, 125: 11-16.

相关系列产品:

- BC0080/BC0085 硝酸还原酶 (NR) 活性检测试剂盒
BC1460/BC1465 谷氨酸脱氢酶 (GDH) 活性检测试剂盒
BC1480/BC1485 水土中亚硝酸盐含量检测试剂盒

