

谷氨酰胺酶（GLS）活性检测试剂盒说明书

微量法

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：BC1455

规格：100T/48S

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 0.4 mL×1 支	2-8℃保存
试剂二 B	液体 1.6 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 2 mL×1 瓶	常温保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

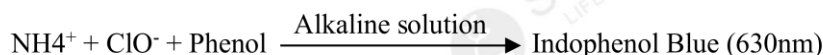
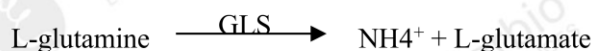
溶液的配制：

- 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 5 mL 蒸馏水充分溶解，-20℃分装保存 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、1.25 μmol/mL 标准溶液的制备：临用前取 125 μL 10 μmol/mL 氮标准液和 875 μL 提取液混合得 1.25 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：

台式离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、水浴锅、可调式移液枪、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15 min，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15min，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. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至630nm，分光光度计蒸馏水调零。
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管或96孔中加入下列试剂）

试剂名称（μL）	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	16	16	-	-
提取液	-	64	-	80
试剂一	64	-	-	-
混匀，37℃水浴1小时			-	-
标准品	-	-	80	-
试剂二	16	16	16	16
试剂三	12	12	12	12
蒸馏水	92	92	92	92

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。

$$GLS (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 酶促} \div (V \text{ 样本} \times C_{pr}) \div T = 6.25 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div C_{pr}$$

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。

$$GLS (U/g \text{ 质量}) = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 酶促} \div (W \div V \text{ 提取} \times V \text{ 样本}) \div T = 6.25 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div W$$

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。

$$GLS (U/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 酶促} \div (N \div V \text{ 提取} \times V \text{ 样本}) \div T = 6.25 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div N$$

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。

$$GLS (U/mL) = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 酶促} \div V \text{ 样本} \div T = 6.25 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准}$$

C 标准：标准液浓度，1.25μmol/mL；V 酶促：酶促反应体积，0.08mL；V 提取：加入提取液体积，1mL；V 样本：上清液体积，0.016mL；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 0.8 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] Zhang H, Phillip FO, Wu L, Zhao F, Yu S, Yu K. Effects of Temperature and Nitrogen Application on Carbon and Nitrogen Accumulation and Bacterial Community Composition in Apple Rhizosphere Soil. *Front Plant Sci.* 2022 Apr 4;13:859395. doi: 10.3389/fpls.2022.859395. PMID: 35444679; PMCID: PMC9014127.
- [2] Zhang B, Fu R, Duan Z, Shen S, Zhu C, Fan D. Ginsenoside CK induces apoptosis in triple-negative breast cancer cells by targeting glutamine metabolism. *Biochem Pharmacol.* 2022 Aug;202:115101. doi: 10.1016/j.bcp.2022.115101. Epub 2022 May 23. PMID: 35618001.
- [3] Lu H, Yin H, Qu L, Ma X, Fu R, Fan D. Ginsenoside Rk1 regulates glutamine metabolism in hepatocellular carcinoma through inhibition of the ERK/c-Myc pathway. *Food Funct.* 2022 Apr 4;13(7):3793-3811. doi: 10.1039/d1fo03728e. PMID: 35316310.
- [4] Xu Y, Jiang S, Hu Y, Zhang Q, Su W. TGF- β 3 induces lactate production in Sertoli cell through inhibiting the Notch pathway. *Andrology.* 2022 Nov;10(8):1644-1659. doi: 10.1111/andr.13288. Epub 2022 Sep 13. PMID: 36057850.
- [5] Hu X, Ma Z, Xu B, Li S, Yao Z, Liang B, Wang J, Liao W, Lin L, Wang C, Zheng S, Wu Q, Huang Q, Yu L, Wang F, Shi M. Glutamine metabolic microenvironment drives M2 macrophage polarization to mediate trastuzumab resistance in HER2-positive gastric cancer. *Cancer Commun (Lond).* 2023 Aug;43(8):909-937. doi: 10.1002/cac2.12459. Epub 2023 Jul 11. PMID: 37434399; PMCID: PMC10397568.

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

