

## 谷氨酰胺合成酶（GS）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：BC0910

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 30 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一  | 液体 12 mL×1 瓶 | -20℃保存 |
| 试剂二  | 液体 12 mL×1 瓶 | -20℃保存 |
| 试剂三  | 粉剂×2 瓶       | -20℃保存 |
| 试剂四  | 液体 15 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |

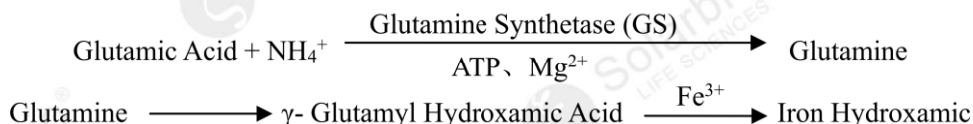
溶液的配制：

试剂三：临用前取一瓶加入 5mL 蒸馏水充分溶解备用，用不完的试剂-20℃分装可保存 4 周，避免反复冻融。

**产品说明：**

GS（EC 6.3.1.2）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。

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。



**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、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1 mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞破碎仪、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）

细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10<sup>4</sup>个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细菌或细胞加入1mL提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

血清（浆）样本：直接检测（若溶液呈现浑浊，则离心取上清后再测定）。





## 二、测定步骤

1、分光光度计预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。

2、在EP管中加入下列试剂：

| 试剂名称 (μL)                         | 测定管 | 对照管 |
|-----------------------------------|-----|-----|
| 试剂一                               | 400 | -   |
| 试剂二                               | -   | 400 |
| 试剂三                               | 175 | 175 |
| 样本                                | 175 | 175 |
| 混匀，37°C（哺乳动物）或25°C（其他物种）准确水浴30min |     |     |
| 试剂四                               | 250 | 250 |

混匀，静置 10min 后，5000g，常温离心 10min，取全部上清液测定 540nm 处的吸光值 A。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设一个对照管。

## 三、GS 活力单位的计算

1. 血清（浆）GS活性

单位定义：每mL血清（浆）在每mL反应体系中每分钟使540nm下吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

$$GS (U/mL) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div 0.01 \div T = 19 \times \Delta A$$

2. 组织、细菌或细胞GS活性

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白在每mL反应体系中每分钟使540nm下吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

$$GS (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div 0.01 \div T = 19 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算：

单位的定义：每g组织在每mL反应体系中每分钟使540nm下吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

$$GS (U/g \text{ 质量}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 19 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细菌或细胞数量计算：

单位定义：每1万个细菌或细胞在每mL反应体系中每分钟使540nm下吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

$$GS (U/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 0.038 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积，1mL；V样：加入样本体积，0.175mL；V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；500：细菌或细胞总数，500万。

## 实验实例：

1、称取 0.125g 鼠肾，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆，按照测定步骤操作，用 1mL 玻璃比色皿测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.323 - 0.047 = 0.276$ ，带入公式计算：

$$GS (U/g \text{ 质量}) = 19 \times \Delta A \div W = 41.952 U/g \text{ 质量}。$$

2、称取0.110g 鼠肝，加入1mL提取液进行冰浴匀浆，按照测定步骤操作，用1mL玻璃比色皿测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 1.203 - 0.036 = 1.167$ ，带入公式计算：

$$GS (U/g \text{ 质量}) = 19 \times \Delta A \div W = 201.57 U/g \text{ 质量}。$$

3、称取0.158g 黄豆芽，加入1mL提取液进行冰浴匀浆，按照测定步骤操作，用1mL玻璃比色皿测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.198 - 0.088 = 0.11$ ，带入公式计算：



GS (U/g 质量) =  $19 \times \Delta A \div W = 13.223$  U/g 质量。

#### 相关发表文献:

- [1] Wang Y, Bai J, Wen L, Wang W, Zhang L, Liu Z, Liu H. Phytotoxicity of microplastics to the floating plant *Spirodela polyrrhiza* (L.): Plant functional traits and metabolomics. *Environ Pollut.* 2023 Apr 1;322:121199. doi: 10.1016/j.envpol.2023.121199. Epub 2023 Feb 2. PMID: 36738884.
- [2] Liu J, Tong L, Zhang X, Zhang H, Tao B, Gong Q, Zeng R, Song Y. Dynamic nitrogen reallocation in rice plants upon insect herbivory by a generalist lepidopteran pest *Spodoptera litura* (Fabricius). *Plant Cell Environ.* 2024 Jan;47(1):294-307. doi: 10.1111/pce.14736. Epub 2023 Oct 16. PMID: 37843127.
- [3] Zhang C, Liu H, Wang J, Li Y, Liu D, Ye Y, Huang R, Li S, Chen L, Chen J, Yao M, Ma C. A Key Mutation in Magnesium Chelatase I Subunit Leads to a Chlorophyll-deficient Mutant of Tea (*Camellia sinensis*). *J Exp Bot.* 2023 Oct 31:erad430. doi: 10.1093/jxb/erad430. Epub ahead of print. PMID: 37904595.
- [4] Feng K, Wang W, Rong J, Liang J, Mi J, Wu Y, Wang Y. Construction of recombinant *Pichia pastoris* strains for ammonia reduction by the *gdhA* and *glnA* regulatory genes in laying hens. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2022 Apr 1;234:113376. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113376. Epub 2022 Mar 4. PMID: 35255249.
- [5] Sun H, Cui H, Zhang J, Kang J, Wang Z, Li M, Yi F, Yang Q, Long R. Gibberellins Inhibit Flavonoid Biosynthesis and Promote Nitrogen Metabolism in *Medicago truncatula*. *Int J Mol Sci.* 2021 Aug 27;22(17):9291. doi: 10.3390/ijms22179291. PMID: 34502200; PMCID: PMC8431309.

#### 参考文献:

- [1] Haghighat N. Estrogen ( $17\beta$ -Estradiol) enhances glutamine synthetase activity in C6-glioma cells[J]. *Neurochemical research*, 2005, 30(5): 661-667.
- [2] Bressler S L, Ahmed S I. Detection of glutamine synthetase activity in marine phytoplankton: optimization of the biosynthetic assay[J]. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1984, 14: 207-217.

#### 相关系列产品:

- BC0080/BC0085 硝酸还原酶 (NR) 活性检测试剂盒  
BC1450/BC1455 谷氨酰胺酶 (GLS) 活性检测试剂盒  
BC1460/BC1465 谷氨酸脱氢酶 (GDH) 活性检测试剂盒  
BC0070/BC0075 谷氨酸合成酶 (GOGAT) 活性检测试剂盒

