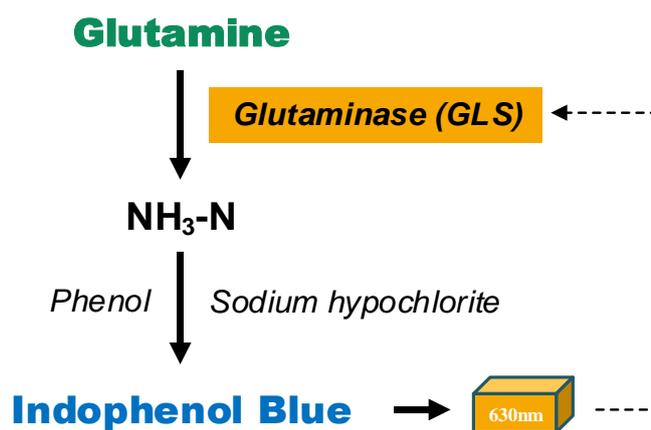




谷氨酰胺酶 (GLS) 活性检测试剂盒
Glutaminase (GLS) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



谷氨酰胺酶 (GLS) 活性检测试剂盒

Glutaminase (GLS) Activity Assay Kit

一、产品描述

谷氨酰胺酶 (GLS) 存在于高等动物、细菌以及植物根中，是植物体内氮同化的关键酶之一，能够催化谷氨酰胺水解为谷氨酸和氨。谷氨酰胺酶分为肾型谷氨酰胺酶 (GLS1) 和肝型谷氨酰胺酶 (GLS2)，能够调节体内碱贮和尿素的合成，在氮素代谢过程中具有重要调控作用。

谷氨酰胺酶能够催化谷氨酰胺生成 $\text{NH}_3\text{-N}$ ，进一步与次氯酸盐和苯酚反应生成蓝色靛酚，产物在 630 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征谷氨酰胺酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 70 mL×1 瓶	4°C 保存	使用前 37°C 预热
试剂一	粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 10 mL 提取液充分溶解
试剂二	A 液	液体 0.4 mL×1 支	使用前将 A 液倒入 B 液中充分均匀 (或者根据比例 A:B=1:4 现用现配)
	B 液	液体 1.6 mL×1 瓶	
试剂三	液体 2 mL×1 瓶	RT	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	10 $\mu\text{mol/mL}$ 氮标准液 (使用前 37°C 预热)
标准应用液的制备：将 10 $\mu\text{mol/mL}$ 氮标准液使用提取液稀释至 1.25 $\mu\text{mol/mL}$ 。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 15 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量 (10^4 个)：提取液体积 (mL) 为 (500-1000) :1 的比例（建议 500 万个细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 12000 g 离心 15 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 630 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔板或离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	16	16	-	-
提取液	-	64	-	80
试剂一	64	-	-	-
充分混匀，37°C准确反应 1 h				
标准应用液	-	-	80	-
试剂二	16	16	16	16
试剂三	12	12	12	12
蒸馏水	92	92	92	92
充分混匀，室温静置 30 min				

吸光值测定：测定 630 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白组只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照组。

3.谷氨酰胺酶 (GLS) 活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：37°C条件下，每 mg 组织蛋白每小时生成 1 μmol $\text{NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{酶促}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{6.25 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：37°C条件下，每 g 组织每小时生成 1 μmol $\text{NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{酶促}} \times V_{\text{提}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{6.25 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：37°C条件下，每 10^4 个细胞每小时生成 1 μmol $\text{NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{酶促}} \times V_{\text{提}}}{\Delta A_{\text{标准}} \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{6.25 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：37°C条件下，每 mL 液体样本生成 1 μmol NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GLS (U/mL)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 酶促}}{\Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \times T} = \frac{6.25 \times \Delta A \text{ 测定}}{\Delta A \text{ 标准}}$$

注释：C 标：氮标准应用液浓度，1.25 μmol/mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.016 mL；

V 酶促：酶促反应总体积，0.08 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：酶促反应时间，1 h。

四、注意事项

- ①试剂二配置后尽快使用，若发现变色则停止使用重新配置；
- ②若测定吸光值大于 0.8 时，建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- 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，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

