



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

NADH-谷氨酸合成酶(NADH-GOGAT)活性检测试剂 盒 非绿色组织 微板法

货号: R32362

规格: 96T

保存温度: 2-8℃保存, 有效期 3 个月。

产品简介:

谷氨酸合成酶 (GOGAT) 一般包含两类: 一类是多存在于叶绿体 (叶片) 中的 Fd-GOGAT, 另一类是多存在于非绿色组织 (根) 前质体中的 NADH-GOGAT。GOGAT 广泛分布于植物中, 植物吸收的无机氮经硝酸还原糖 (NR) 和亚硝酸还原酶 (NIR) 还原成 NH_4^+ 后, 通过谷氨酰胺合成酶 (GOGAT) 参与的 GS/GOGAT 途径才能进行氮素的同化和利用。

NADH-谷氨酸合成酶 (NADH-GOGAT, EC 1.4.1.14) 催化谷氨酰胺的氨基转移到 α -酮戊二酸, 形成两分子的谷氨酸; 同时 NADH 氧化生成 NAD^+ , 可以通过检测 340nm 吸光度的下降速率得出 NADH-GOGAT 的酶活性大小。

该酶催化的反应: $\text{L-glutamine} + 2\text{-oxoglutarate} + \text{NADH} + \text{H}^+ = 2 \text{L-glutamate} + \text{NAD}^+$

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉末×2 支	4℃保存	用前甩几下或 4℃离心使试剂落入试管底部, 每瓶加入 2.2mL 的提取液充分溶解, 用不完的试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融, 三天内用完。
试剂二	粉末×2 瓶	4℃保存	用前甩几下或 4℃离心使试剂落入试管底部, 每瓶加入 14mL 的提取液充分溶解, 仍 4℃保存。



使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

样本处理:

(a) 称取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可以取 0.5g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;

(b) 12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上测定。

【注】: 1. 根据研究需求, 可按组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

2. 若样本颜色较深 (如植物叶片), 可引起起始值 A1 值较大如超过 1.5, 可在样本制备过程中增加除色素步骤: 取约 0.2g 组织 (水分充足的样本可取 1g), 加入 80%乙醇冰浴匀浆, 12000rpm, 4℃离心 10min, 弃掉色素较深的上清液; 以上除色素步骤重复 2 次。最后向离心得到的沉淀中加入 1mL 提取液, 混匀或再次冰浴匀浆, 12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清置冰上待测。

二、样品测定:

1. 酶标仪预热 30min, 设定波长到 340nm。

2. 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	20
试剂一	40
试剂二	140
混匀, 340nm 下进行时长扫描, 1min 时读取 A1, 10min 后读取 A2 值, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】: 1. 若 A1 太大如超过 2 (如颜色较深的植物叶片, 一般色素较高, 则起始值相对会偏高), 可以适当减少样本加样量 V1 (如减至 10μL, 另外 10μL 用提取液补齐), 则改变后的 V1 需代入计算公式重新计算。或者减少试剂一的加样量 (如减至 20μL, 另外 20μL 用蒸馏水补齐) 或向待测样本中加少许活性炭混匀静置 5min 后 12000rpm, 4℃离心 10min, 上清液用于检测;



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyyssw@sina.com

2. 若 ΔA 的值大于 0.4，则需减少反应时间（如减少至 5min），则改变后的反应时间 T 需代入计算公式重新计算。

3. 若下降趋势不稳定，可以每隔 20S 读取一次吸光值，选取一段线性下降的时间段来参与计算，相对应的 A 值也代入计算公式重新计算。

三、结果计算

1. 按蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NADH-GOGAT}(\text{nmol Glu/min/mg prot}) = 2 \times [\Delta A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T = 6430.9 \times \Delta A \div \text{Cpr} \div T$$

2. 按样本质量计算：

单位定义：每克组织每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{NADH-GOGAT}(\text{nmol Glu/min/g 鲜重}) = 2 \times [\Delta A \times V_2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_1 \div V) \div T = 6430.9 \times \Delta A \div W \div T$$

V--提取液体积，1 mL

V1--加入样本体积，0.02mL

V2--反应总体积， 2×10^{-4} L

ϵ --NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm

d--96 孔板光径，0.5cm

W--样本质量，g

T--反应时间，本实验中是 10min

Cpr---上清液蛋白质浓度（mg/mL）

2--每合成 2nmol 的 Glu 有 1nmol 的 NADH 被氧化

注意事项：

1、 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

2、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。