



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

谷氨酰胺酶(GLS)活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41797

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液ES52	60mL×2瓶	2-8℃保存;
R41797-B	粉剂×2瓶	2-8℃避光保存; 临用前每瓶加入25mL蒸馏水充分溶解待用, 现配现用;
R41797-C	60mL×1瓶	常温保存;
R41797-D	5mL×1瓶	常温保存;
R41797-E	3mL×1瓶	常温保存;
R41797-F	3mL×1瓶	常温避光保存;

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义: 谷氨酰胺酶 (glutaminase, GLS) (EC 3.5.1.2) 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。

原理: 谷氨酰胺酶 (GLS) 催化谷氨酰胺水解成 L-谷氨酸和氨, 利用奈氏试剂检测氨增加的速率, 即可计算其酶活性。

自备用品:

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、冰和双蒸水。

粗酶液提取:



1. 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 (10^4 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 ES52), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2. 组织: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液 ES52, 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

3. 血清 (浆) 样品: 直接检测。

测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 420nm, 蒸馏水调零。

2. 样本测定, 在 EP 管中加入下列试剂:

试剂名称	测定管(ul)	对照管(ul)
样本	25	
蒸馏水		25
提取液ES52	100	100
R41797-B	400	400
混匀, 37℃水浴1小时		
R41797-C	525	525
混匀, 8000g, 25℃离心10 min; 取上清液, 在EP管或96孔板中加入下列试剂:		
上清液	130	130
R41797-D	30	30
R41797-E	20	20
R41797-F	20	20
混匀, 混匀, 室温静置15min, 420nm处读取测定管和对照管吸光值, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。 注: 对照管只要做1-2次。		

酶活性计算:

标准条件下测定的回归方程为 $y = 1.9244x + 0.0057$, $R^2 = 0.9983$; ; x 为标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$), y 为吸光值 A

1. 血清 (浆) GLS 活性



单位定义: 每 mL 血清 (浆) 每小时催化谷氨酰胺生成 1nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{计算公式: GLS (U/mL)} = (\Delta A - 0.0057) \div 1.9244 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \times 1000 \\ = 363.7 \times (\Delta A - 0.0057)$$

2. 组织、细菌或细胞GLS 活性

(1) 按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每mg 蛋白质每小时催化谷氨酰胺生成1nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{计算公式: GLS (U/mg prot)} = (\Delta A - 0.0057) \div 1.9244 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times 1000 = 363.7 \times (\Delta A - 0.0057) \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每g 组织每小时催化谷氨酰胺生成1nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{计算公式: GLS (U/g 鲜重)} = (\Delta A - 0.0057) \div 1.9244 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 1000 = 363.7 \times (\Delta A - 0.0057) \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算

单位定义: 每1 万个细菌或细胞每小时催化谷氨酰胺生成1nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{计算公式: GLS (U/10}^4 \text{ cell)} = (\Delta A - 0.0057) \div 1.9244 \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 1000 = 0.7274 \times (\Delta A - 0.0057)$$

注: V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; T: 反应时间, 60min; V 反总: 反应体系总体积, 1.05mL; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.025mL; 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; 1000, μmol 到 nmol 换算系数。