

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K664-M

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 酶标仪(560-580 nm)

Elabscience®谷氨酰胺合成酶 (GS) 比色法测试盒

Glutamine Synthetase (GS) Activity

Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)和动物组织的谷氨酰胺合成酶(GS)的活力。

检测原理

谷氨酰胺合成酶(GS)是生物体氮代谢的中心酶之一。在消耗 ATP 的情况下, GS 催化由谷氨酸向谷氨酰胺的转化。后者是各种含氮物质如蛋白质、核酸及各种辅酶的氨基供体, 作为人体的一种条件必需性氨基酸, 谷氨酰胺的生产近年来受到了广泛的重视。GS 催化铵离子和谷氨酸合成谷氨酰胺, 在转化酶和显色剂的作用下生成显色物质, 在 570 nm 处有最大吸收峰, 通过测定 570 nm 处的 OD 值大小和标准曲线计算样本中 GS 的活力。

本试剂盒检测组织样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	40 mL×1 瓶	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	1.8 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×3 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	促进剂 (Accelerant)	粉剂×3 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	催化剂 (Catalyst)	粉剂×3 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	5 mmol/L 标准品溶液 (5 mmol/L Standard Solution)	1 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	显色剂 (Chromogenic Agent)	0.3 mL×1 支	-20°C 避光 保存个月
试剂八 (Reagent 8)	稳定剂 (Stabilizer)	1.8 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	96 孔×1 块	无要求

	96孔覆膜	2张	
	样本位置标记表	1张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(560-580 nm，最佳检测波长 570 nm)、37°C 恒温箱

试剂：生理盐水 (0.9% NaCl)

试剂准备

① 检测前，试剂平衡至室温25°C。

② 试剂三工作液的配制：

取一支试剂三加入200 μ L双蒸水溶解，置于避光冰上避光待用，配好的试剂三工作液-20°C可避光保存7天。

③ 试剂四工作液的配制：

取一支试剂四加入0.5 mL试剂一溶解，置于冰上避光待用，配好的试剂四工作液-20°C可避光保存2天。

④ 试剂五工作液的配制：

取一支试剂五加入1 mL双蒸水溶解，置于冰上避光待用，配好的试剂五工作液-20°C可避光保存2天。

⑤ 反应工作液的配制：

按照试剂一：试剂三工作液：试剂四工作液：试剂五工作液：试剂八=29:1:1:2:1的体积比混匀，配好的反应工作液在4 h内使用有效。

⑥ 显色剂工作液的配制：

按照试剂一：试剂七=19:1的体积比混匀，现配现用，按需配制，置于冰上避光待用，配好的显色剂工作液4 h内使用有效。

⑦ 0.5 mmol/L标准品溶液的配制：

按照试剂六：双蒸水按体积比=1:9混匀，得到0.5 mmol/L标准品溶液，配

好的标准品溶液-20℃可避光保存7天。

⑧ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.1	0.15	0.2	0.3	0.4	0.45	0.5
0.5 mmol/L/L 标准品(μL)	0	20	30	40	60	80	90	100
双蒸水(μL)	100	80	70	60	40	20	10	0

样本准备

① 样本处理

血清(浆)等液体样本：直接测定。

组织样本：按照组织样本质量(g)：生理盐水体积(mL) = 1:9的比例匀浆(如0.05 g组织样本，加入0.45 mL生理盐水)。4℃，10000 × g，离心10 min，取上清置于冰盒上待测，留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.25-25.00 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%大鼠肾组织	4-10	10%大鼠脾组织	2-10
10%大鼠肝组织	5-20	10%大鼠心组织	2-10
10%小鼠肝组织	5-20	10%大鼠肺组织	2-10
10%小鼠脑组织	2-10	10%大鼠脑组织	5-20
大鼠血清	不稀释	人血清	不稀释
大鼠血浆	不稀释	猪血清	不稀释

注：稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)。

实验关键点

若样本测值低，可适当延长孵育时间至 60 min。

操作步骤

- ① 标准孔：取 20 μL 不同浓度标准品溶液加入相应的酶标孔中。
测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。
对照孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①中各标准孔和测定孔加入 20 μL 试剂二，对照孔加入 20 μL 试剂一。
- ③ 向步骤②中各孔依次加入 150 μL 反应工作液。
- ④ 向步骤③各孔加入 40 μL 显色剂工作液。
- ⑤ 振板 5 s, 37°C 避光孵育 30 min, 酶标仪 570 nm 波长检测各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度的标准品(μL)	20		
样本(μL)	--	20	20
试剂二(μL)	20	20	--
试剂一(μL)	--	--	20
反应工作液(μL)	150	150	150
显色剂工作液(μL)	40	40	40
振板 5 s, 37°C 避光孵育 30 min, 酶标仪于 570 nm 波长检测各孔 OD 值。			

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

标准曲线: $y = ax + b$

血清(浆)样本中 GS 活力计算公式:

定义: 37°C 条件下, 每升血清(浆)每分钟生成 1 μmol 底物的所需的 GS 酶量为一个活力单位。

$$\text{GS 活力 (U/L)} = (\Delta A_{570} - b) \div a \div T \times 1000 \times f$$

组织样本中 GS 活力计算公式:

定义: 37°C 条件下, 每克组织蛋白每分钟生成 1 μmol 底物的所需的 GS 酶量为一个活力单位。

$$\text{GS 活力 (U/gprot)} = (\Delta A_{570} - b) \div a \div T \times 1000 \div C_{\text{pr}} \times f$$

注解:

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值 (标准品浓度为 0 时 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{570} : 测定孔 OD 值-对照孔 OD 值

T: 孵育反应时间, min

1000: 1 mmol/L = 1000 $\mu\text{mol/L}$

C_{pr} : 蛋白浓度, gprot/L

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

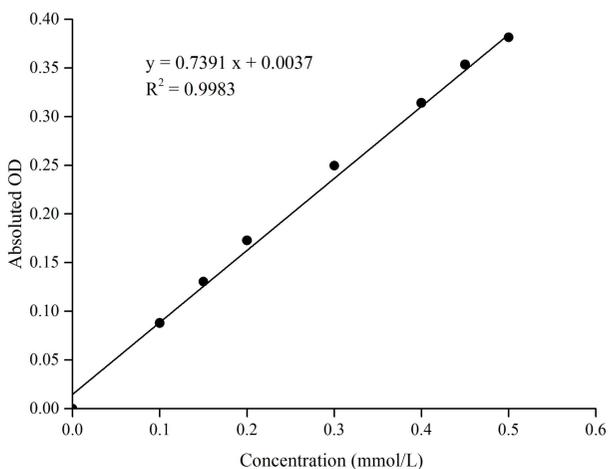
检测范围	0.25-25 U/L	批间差	5.3-6.8 %
灵敏度	0.25 U/L	批内差	2.0-4.0 %
稀释回收率	96-100 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μ L, 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.1	0.15	0.2	0.3	0.4	0.45	0.5
OD 值	0.075	0.166	0.208	0.251	0.332	0.385	0.418	0.448
	0.077	0.162	0.205	0.247	0.319	0.395	0.421	0.447
平均 OD 值	0.076	0.164	0.207	0.249	0.326	0.390	0.420	0.448
绝对 OD 值	0.000	0.088	0.131	0.173	0.250	0.314	0.344	0.372

② 绘制标曲(如下图):



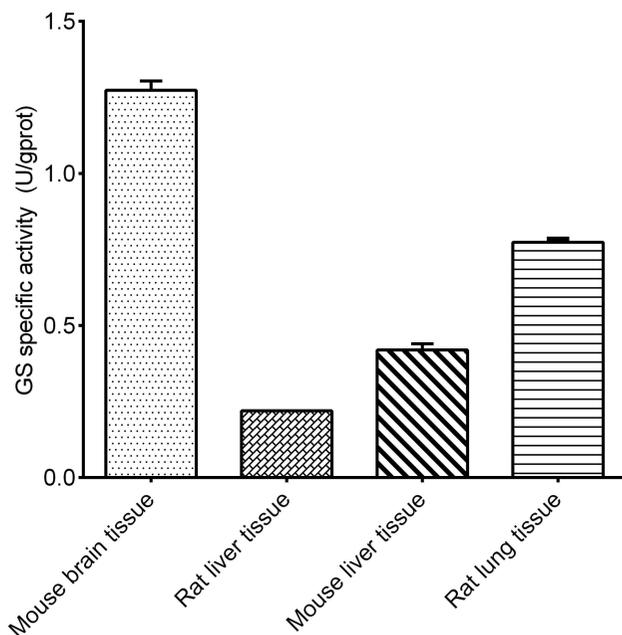
附录2 实例分析

例如检测小鼠脑组织(数据仅供参考):

取稀释2倍的10%小鼠脑组织匀浆上清液20 μL , 按操作表操作, 结果如下:
标准曲线: $y = 0.7391x + 0.0037$, 反应30 min后测定孔OD值为0.130, 对照孔OD值为0.056, 10%小鼠脑组织匀浆蛋白浓度为5.13 gprot/L, 计算结果为:

$$\text{GS 活力 (U/gprot)} = (0.130 - 0.056 - 0.0037) \div 0.7391 \div 30 \times 1000 \div 5.13 \times 2 = 1.24 \text{ U/gprot}$$

按照说明书操作, 测定小鼠脑组织(稀释2倍, 10%组织匀浆蛋白浓度为5.13 gprot/L, 加样量20 μL)、大鼠肝组织(稀释6倍, 10%组织匀浆蛋白浓度为7.74 gprot/L, 加样量20 μL)、小鼠肝组织(稀释6倍, 10%组织匀浆蛋白浓度为11.85 gprot/L, 加样量20 μL)和大鼠肺组织(10%组织匀浆蛋白浓度为5.63 gprot/L, 加样量20 μL)中GS活力(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

