谷氨酸合成酶（GOGAT）活性检测试剂盒（微量法）
（本试剂盒仅供科研使用）

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0750	谷氨酸合成酶（GOGAT）活性检测试剂盒	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL ×1 瓶	4℃
试剂一	液体 20mL ×1 瓶	4℃
试剂二	粉剂 ×1 瓶	4℃

一、产品说明

谷氨酸合成酶（GOGAT）分布于植物中，和谷氨酰胺合成酶共同构成 GS/GOGAT 循环，参与氨同化的调控。

GOGAT 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+，340nm 吸光度的下降速率可以反映 GOGAT 活性大小。

二、自备材料

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品制备

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。

2、细菌或培养细胞：收集不少于 500 万个细胞，离心后取弃上清，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），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。

四、操作步骤

正式测定前，必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。

2、工作液的配制：在试剂二中加入 18mL 试剂一充分溶解混匀，置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 5min；现配现用。

3、在微量石英比色皿或 96 孔板中加入 20μL 样本和 180μL 试剂二，混匀，立即记录 340nm 处 20s 时的吸光值 A1 和 5min20s 后的吸光值 A2，计算 ΔA=A1-A2。

五、GOGAT 活性的计算

A. 使用 96 孔 UV 板检测的计算公式如下：

1、按照样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白每分钟消耗1nmoL的NADH定义为一个酶活力单位。

GOGAT（nmoL/min/mg prot）=[ΔA×V反总÷（ε×d）×10^9]÷(V样×Cpr) ÷T
=643×ΔA÷Cpr
2、按照样本鲜种计算：
单位的定义：每g组织每分钟消耗1nmoL NADH定义为一个酶活力单位。
GOGAT（nmoL/min/g 鲜重）=[ΔA×V反总÷（ε×d）×10^9]÷(W×V样÷V样总) ÷T
=643×ΔA÷W。
3、按细菌或细胞密度计算：
单位的定义：每1万个细菌或细胞每分钟消耗1nmoL NADH定义为一个酶活力单位。
GOGAT（nmoL/min/10^{4}ceLL）=[ΔA×V反总÷（ε×d）×10^9]÷(500×V样÷V样总)÷T
=1.286×ΔA。

V 反总：反应体系总体积，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；V样：加入样本体积，0.02 mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，5min；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。

B. 使用微量石英比色皿检测的计算公式如下：
1、按照样本蛋白浓度计算：
单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1nmoL 的 NADH 定义为一个酶活力单位。
GOGAT（nmoL /min/mg prot）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷(V 样×Cpr) ÷T
=321×ΔA÷Cpr。
2、按照样本鲜重计算：
单位的定义：每 g 组织每分钟消耗 1nmoL NADH 定义为一个酶活力单位。
GOGAT（nmoL /min /g 鲜重）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷(W×V 样÷V 样总) ÷T
=321×ΔA÷W。
3、按照细胞/细菌数量计算：
单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟消耗 1nmoL NADH 定义为一个酶活力单位。
GOGAT（nmoL/min/10^{4}ceLL）=[ΔA×V 反总÷（ε×d）×10^9]÷(500×V 样÷V 样总) ÷T
=0.642×ΔA。

V 反总：反应体系总体积，2×10^{-4}L；ε：NADH 摩尔消光系数，6.22×10^{3}L/moL/cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.02 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，5 min；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。