谷氨酸合成酶（GOGAT）活性检测试剂盒（分光光度计法）
（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
YFX0076	谷氨酸合成酶（GOGAT）活性检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 60mL ×1 瓶	4℃
试剂一	液体 60mL ×1 瓶	4℃
试剂二	粉剂 ×1 支	4℃
试剂三	粉剂 ×1 支	4℃
试剂四	粉剂 ×1 支	-20℃

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、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 石英比色皿、研钵、 冰、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、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。

2、工作液的配制：临用前将试剂二、三、四转移到试剂一中混合溶解，置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 5min；现配现用。

3、取 0.1mL 样本和 1mL 工作液于 1mL 比色皿中，混匀，加工作液的同时开始计时，在 340nm 波长下记录 20 秒时的初始吸光度 A1 和 5 分 20 秒时的吸光度 A2，计算ΔA=A1-A2。

五、GOGAT 活性的计算

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 =354×ΔA÷Cpr。

需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

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 =354×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/10^4ceLL)=[ΔA×V 反总÷(ε×d)×10^9]÷(500×V 样÷V 样总) ÷T =0.708×ΔA。

V 反总：反应体系总体积，1.1×10^{-3} 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，0.1 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。