

Glutamate Synthase(NADH-GOGAT) Activity Assay Kit

NADH-谷氨酸合成酶（NADH-GOGAT）活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1069A	NADH-谷氨酸合成酶（NADH-GOGAT）活性检测试剂盒 非绿色组织 分光法	48T

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酶（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 100mL×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 4.2mL 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：

- 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；
- 10000-12000g，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。

- 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，10000-12000g，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，10000-12000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

二、样品测定：

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



1. 紫外分光光度计预热 30min，设定波长到 340nm，蒸馏水调零。
2. 反应液的制备（现配现用）：按照试剂一：试剂二：提取液=10:1:9 的比例混匀。
3. 在 1ml 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	80
试剂一	160
试剂二	560
混匀，立即于 340nm 读取吸光值 A1，10min 后读取吸光值 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

- 【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 40μL，另外 40μL 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 80μL，另外 80μL 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 10000-12000g, 4℃离心 10min，上清液用于检测；
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。

$$\text{NADH-GOGAT}(\text{nmol Glu/min/mg prot}) = 2 \times [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V1 \times Cpr) \div T$$

$$= 3215.4 \times \Delta A \div Cpr \div T$$

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。

$$\text{NADH-GOGAT}(\text{nmol Glu/min/g 鲜重}) = 2 \times [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T$$

$$= 3215.4 \times \Delta A \div W \div T$$

V--提取液体积，1 mL

V2--反应总体积， 8×10^{-4} L

d--1mL 石英比色皿光径，1cm

T--反应时间，本实验中是 10min

2--每合成 2nmol 的 Glu 有 1nmol 的 NADH 被氧化

V1--加入样本体积，0.08mL

ϵ --NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm

W--样本质量，g

Cpr---上清液蛋白质浓度（mg/mL）

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。

有效期：

4℃保存三个月。

