



## 天冬酰胺合成酶活性检测试剂盒 Asparagine synthase Assay Kit

微量法

产品编号：AK382M

产品规格：100T/96S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK382-A	60 mL×2 瓶	4℃保存；
AK382-B	40 mL×1 瓶	4℃保存；
AK382-C	60 mL×1 瓶	常温保存；
AK382-E	1 mL×1 瓶	常温保存；
AK382-F	1 mL×1 瓶	常温避光保存，如出现沉淀，静置后取上清使用；
AK382-标准品 (1mg/ml)	1 mL×1 瓶	4℃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：**天冬酰胺合成酶 (Asparagine synthase, AS) 是广泛存在于生物体内的一类氨基转移酶，催化谷氨酰胺的氨基向天冬氨酸转移。当植物处于氨毒时天冬酰胺的形成是一种解毒反应。

**原理：**AS 催化 L-天冬酰胺水解成 L-天冬氨酸和氨，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：

微量玻璃比色皿/96 孔板、台式离心机、可见分光光度计/酶标仪、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)：AK382-A 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL AK382-A)，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：按照组织质量 (g)：AK382-A 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL AK382-A)，进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
3. 血清 (浆) 等液体样品：直接测定。

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. 标准品准备：临用前用蒸馏水将标准品稀释至 5、4、3、2、1、0.5、0  $\mu$ g/mL。
3. 样本测定 (按下表在 96 孔板中加入如下试剂)

试剂名称 (uL)	测定管 (uL)	对照管 (uL)	标准管 (uL)
样本	25		
蒸馏水		25	
AK382-A	100	100	
AK382-B	400	400	
混匀，37℃水浴 1 小时			
AK382-C	525	525	
混匀，8000 g，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	190	190	
标准品			190
AK382-D	4	4	4
AK382-E	6	6	6
混匀，室温静置 10min，420nm 处读取吸光值 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。			

注：对照管和标准曲线各只要做 1-2 次。

#### AS 酶活性计算：

1. 标准条件的建立：以浓度 (x) 为横坐标，标准品吸光度 (y) 为纵坐标建立标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A$  ( $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ) 带入公式中计算样本浓度 x ( $\mu\text{g/mL}$ )。

2. 血清 (浆) AS 活性计算：

单位定义：每 mL 血清 (浆) 每小时产生  $1\mu\text{g}$  氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{AS (U/mL)} = x \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 21x$$

3. 组织、细菌或细胞中 AS 活性计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白每小时产生  $1\mu\text{g}$  氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{AS 活力 (U/mg prot)} = x \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 21x \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每小时产生  $1\mu\text{g}$  氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{AS 活力 (U/g 鲜重)} = x \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 21x \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每小时产生  $1\mu\text{g}$  氨定义为一个酶活力单位。

$$\text{AS 活力 (U/10}^4 \text{ cell)} = x \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.042x$$

注：T：反应时间，1h；V 反总：反应体系总体积：0.525mL；V 样：加入反应体系中样本体积，0.025mL；V 样总：提取液体积，1mL；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。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))