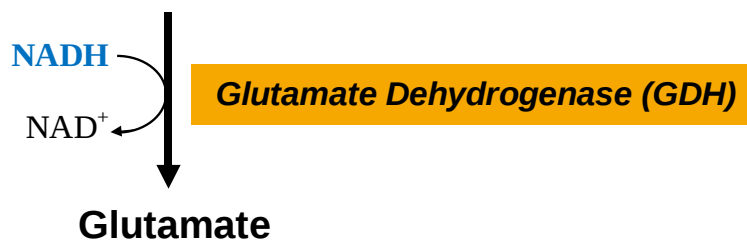




谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒

Glutamate Dehydrogenase (GDH) Activity Assay Kit

2-Oxoglutarate + NH^{4+}



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒

Glutamate Dehydrogenase (GDH) Activity Assay Kit

一、产品描述

谷氨酸（Glu）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，不仅是组成蛋白质的 20 种氨基酸之一，还可以通过转氨基作用参与多种氨基酸合成，是生物体内主要氨基来源之一。谷氨酸脱氢酶（GDH）和谷氨酸合成酶（GOGAT）共同参与谷氨酸的合成，在氮同化和转化成有机氮化合物的代谢中起重要作用。

谷氨酸脱氢酶能够催化 α -酮戊二酸、NADH 和 NH_4^+ 生成谷氨酸和 NAD^+ ，NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过测定 NADH 分解速率即可表征谷氨酸脱氢酶的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液		液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
检测液	组分 A	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	使用前将组分 A 加入组分 B 中充分混匀 (可分装后 -20°C 保存，避免反复冻融)
	组分 B	粉剂×1 瓶	-20°C 避光保存	

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 1 cm）/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量和比例）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，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 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ②使用前将配置完成的检测液置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 5 min。
- ③在微量石英比色皿或 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	10
检测液	190

吸光值测定：①混匀并立即开始计时，测定 20 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1；②测定 320 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

3.谷氨酸脱氢酶（GDH）活性计算

3.1 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{643 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{643 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{643 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 643 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：微量石英比色皿光径，1 cm；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；细菌或细胞数量：以万计； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 10^9 nmol。

3.2 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1286 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1286 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1286 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 1286 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；细菌或细胞数量：以万计； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

四、注意事项

- ①测定过程中样本应保持冰上放置，以免变性和失活；
- ②准确在 20 s 和 320 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性；若使用 96 孔 UV 板进行检测，应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；
- ③若 ΔA 大于 0.5，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ④提取液中含有约 1 mg/mL 的蛋白，测定样本蛋白浓度时需要减去提取液自身的蛋白含量；
- ⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

