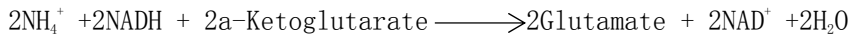
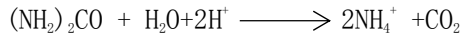


## 1 原理



NADH 的消耗可以通过 340nm 的光吸收进行检测。

## 2 试剂:

A 6.0M 尿素溶液:称取 3.6g 尿素,溶于 10ml 水中。

B  $\alpha$ -酮戊二酸溶液:称取 146mg  $\alpha$ -酮戊二酸溶于 3ml 水中,用 5N NaOH 调 pH 至 5.0,定容至 4ml。

C 7.5mM NADH 溶液:称取适量的 NADH 溶 4ml 水中

D 5000U/ml GLDH 溶液

E 工作液的配制:在一容器中加入 3.45ml 1M Tris-HCl 缓冲液 pH 为 8.0 0.3ml

$\alpha$ -酮戊二酸溶液 1.8ml 7.5mM NADH 溶液 76.95ml 蒸馏水,校验 pH 为 8.0

F 10mM K-P 酶稀释液:含 0.2% BSA 20mM EDTA, pH 7.0

## 3 操作规程:

### 3.1 仪器参数设定

若仪器中无已保存参数,按以下参数设定。若已有相关参数,调取后确认。

检测方法:动力学扫描

测量波长:340nm

测量时间:300s

延迟时间:120s

积分时间:180s

系数/因子:2.41

测量温度:37±0.5° C

### 3.2 样品准备

若待测样品为固体,可以按 10mg 样品/1000ul 超纯水比例溶解。溶解后于 2-8 度放置 30min。

### 3.3 检测方法

3.3.1 在石英比色皿中加入 2.75ml 工作, 50ul GLDH 溶液, 100ul 待测样品,于 37 度孵育 2min。

3.3.2 加入 100ul 尿素溶液后,温和混匀后开始测定。

3.3.3 测定结束后,记录相应数值:起始读数、 $\Delta A/\text{min test}$ 、活性值(U/ml)。

3.3.4 活性值(U/ml) 范围为 0.01-0.1U/ml,若超出范围,待测样品需经酶稀释液稀释后再次进行检测。

3.3.5 测定样品前需检测空白反应值,即其他操作不变,用 100ul 酶稀释液代替样品加入比色皿后进行反应,测定  $\Delta A/\text{min blank}$ 。

3.3.6 计算公式活 性(U/ml) = ( $\Delta A/\text{min test} - \Delta A/\text{min blank}$ ) × 2.41 (稀释倍数)