



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## 谷氨酸脱氢酶(GDH)活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41793

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

| 编号                                                                       | 规格       | 储存条件    |
|--------------------------------------------------------------------------|----------|---------|
| 提取液ES11                                                                  | 100ml×1瓶 | 4℃保存;   |
| R41793-A                                                                 | 20mL×1瓶  | 4℃保存;   |
| R41793-B                                                                 | 粉剂×1支    | -20℃保存; |
| 工作液配制: 在R41793-B中加入19mLR41793-A充分溶解混匀, 置于37℃(哺乳动物)或25℃(其它物种)水浴5min,现用现配。 |          |         |

### 简介

意义: 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, 在氨同化和转化成有机氮化合物的代谢中起重要作用。

原理: 谷氨酸脱氢酶能够催化  $\alpha$ -酮戊二酸、NADH 和  $\text{NH}_4^+$  生成谷氨酸和  $\text{NAD}^+$ , 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。

### 自备用品:

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板)、水浴锅、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液枪、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; 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液 ES11, 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: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液 ES11, 进行冰浴匀浆。8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

3. 血清 (浆) 样品: 直接检测。

### 测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。

2. 样本测定:

在微量石英比色皿或 96 孔板中加入 10  $\mu$ L 样本和 190  $\mu$ L 工作液 (需要现配), 混匀, 立即记录 340nm 处 20 秒时的吸光值 A1 和 5 分 20 秒后的吸光值 A2, 计算  $\Delta A = A1 - A2$ 。

### GDH 活性计算:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 血清 (浆) 中 GDH 活力的计算:

单位的定义: 每毫升血清 (浆) 每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 643 \times \Delta A$$

2. 组织、细菌或细胞中 GDH 活力的计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算: 单位的定义: 每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 643 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算:

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



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

(3) 按细菌或细胞数量计算:

单位的定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.286 \times \Delta A$$

注:  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4}$  L;  $\epsilon$ : NADH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3$  L / mol / cm;  $d$ : 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.01 mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1 mL;  $T$ : 反应时间, 5 min;  $C_{\text{pr}}$ : 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。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 血清(浆)中 GDH 活力的计算:

单位的定义: 每毫升血清(浆)每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

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

2. 组织、细菌或细胞中 GDH 活力的计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算:

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

$$\text{GDH (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 1286 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算:

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

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

(3) 按细菌或细胞密度计算:

单位的定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

$$\text{GDH (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2.572 \times \Delta A$$

注:  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4}$  L;  $\epsilon$ : NADH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm;  $d$ : 96孔板光径, 0.5cm;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.01 mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1 mL;  $T$ : 反应时间, 5 min;  $C_{\text{pr}}$ : 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。

### 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. 若 $\Delta A$  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;
3. 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。



源叶