

谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1124

产品规格：100管/96样

产品简介：

GDH (EC1.4.1.2) 广泛分布于植物中，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。

GDH催化 NH_4^+ 、 α -酮戊二酸和NADH，生成谷氨酸和 NAD^+ ，引起340nm吸光度下降。通过测定340nm吸光度的下降速率，计算GDH活性。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃

溶液的配制：

工作液的配制：在试剂二中加入19mL试剂一充分溶解，置于37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴5min。

试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔UV板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤（仅供参考）：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3秒，间隔10秒，重复30次）；8000g 4℃离心10分钟，取上清，置冰上待测。
2. 称取约0.1g组织，加入1mL提取液进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10分钟，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计/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UV板中加入10 μ L样本和190 μ L工作液，混匀，立即记录340nm处20s时的吸光值A1和5min 20s后的吸光值A2，计算 $\Delta A=A1-A2$ 。

三、GOGAT 活性计算

a. 按微量石英比色皿计算

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1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

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

2. 按样本质量计算：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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

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

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 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

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

V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；
V 样：加入样本体积，0.01mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，5min；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； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

b. 按 96 孔 UV 板计算：

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 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/mg prot)} = [\Delta A \times V \text{ 反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V \text{ 样}) \div T = 1072 \times \Delta A \div Cpr$$

2. 按样本质量计算

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

$$\text{GDH (U/g 质量)} = [\Delta A \times V \text{ 反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \div T = 1072 \times \Delta A \div W$$

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 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V \text{ 反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times 500) \div T = 2.144 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.6cm；
V 样：加入样本体积，0.01mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，5min；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； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

注意事项：

1. 当 ΔA 大于 0.5 时，将样本进行稀释后测量。
2. 由于提取液中含有一定浓度的蛋白（约 1mg/mL），所以在测定样本蛋白浓度时需要减去提取液本身的蛋白含量。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com