Glutamate Dehydrogenase Activity Assay Kit

NADH-谷氨酸脱氢酶（NADH-GDH）试剂盒说明书

货号：G0405W48 | 方法：微板法| 规格：48 样

一、产品简介：

谷氨酸脱氢酶广泛分布于生物体中，在氨同化和转化成有机氮化合物的代谢中起重要作用。其辅酶是 NADH 或 NADPH，在动植物种两种辅酶都有存在，而以 NADH-谷氨酸脱氢酶（EC 1.4.1.2）活力为主。

本试剂盒提供一种快速灵敏的检测方法，样品中的 NADH-谷氨酸脱氢酶特异性作用于底物谷氨酸并产生 NADH，同时与显色剂反应生成黄色物质，该物质在 450nm 处有最大吸收峰，进而得到 NADH-GDH 的酶活性大小。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	浓度为 1M
试剂二	液体 1mL×1 支	4℃保存	
试剂三	液体 0.6mL×1 支	4℃保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、NADH-谷氨酸脱氢酶（NADH-GDH）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取

② 细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液；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）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，按照细菌或细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取

③ 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm。

② 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
提取液	80
试剂一	50
试剂二	20
样本	40
试剂三	10

For research use only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.
本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断或治疗。

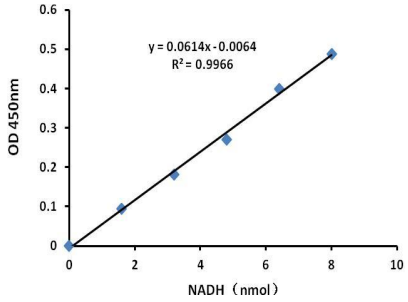
混匀，立即 450nm 下读取 A1 值，15min 后读取 A2 值。ΔA=A 2-A1。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；

针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线的方程：y = 0.0614x - 0.0064，x 是 NADH 摩尔质量（nmol），y 是ΔA。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

NADH-GDH(nmol/min /mg prot)=[(ΔA+0.0064)÷0.0614]÷(V1×Cpr) ÷T

=27.14×(ΔA+0.0064)÷Cpr

3、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

NADH-GDH(nmol/min/g 鲜重)=[(ΔA+0.0064)÷0.0614]÷(W×V1÷V) ÷T

=27.14×(ΔA+0.0064)÷W

4、按细菌/细胞密度计算：

单位定义：每 1 万个细菌/细胞每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

NADH-GDH(nmol/min /10^4 cell)=[(ΔA+0.0064)÷0.0614]÷(500×V1÷V) ÷T

=0.0543×(ΔA+0.0064)

5、按液体体积计算：

单位定义：每毫升液体每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

NADH-GDH(nmol/min/mL)=[(ΔA+0.0064)÷0.0614]÷V1÷T=27.14×(ΔA+0.0064)

V---加入提取液体积，1 mL；V1---加入样本体积，0.04 mL； T---反应时间，15min；

W---样本质量，g； 500---细菌或细胞总数，500 万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

For research use only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.
本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断或治疗。