

谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1123

产品规格：50管/48样

产品简介：

GDH（EC 1.4.1.2）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。

产品内容：

提取液：液体60mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体60mL×瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1瓶，-20℃保存。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

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、紫外分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。

2、样本测定

（1）工作液的配制：临用前将试剂一加入试剂二中混合溶解，置于37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴5min；

（2）取1mL工作液和0.05mL样本于光径为1cm的1mL石英比色皿中，混匀，加样本的同时开始计时，在340 nm波长下记录20秒时的初始吸光度 A_1 和5分20秒时的吸光度 A_2 ，计算 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

注：当 ΔA 大于0.5时，将样本进行稀释后测量。

三、GDH活性计算：

（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。

$$\text{GDH (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 675 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

（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。

$$\text{GDH (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 675 \times \Delta A \div W$$

（3）按细菌或细胞数量计算：

单位的定义：每1万个细菌或细胞在反应体系中每分钟消耗1 nmol NADH定义为一个酶活力单位。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

$$\text{GDH (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 1.35 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积， 1.05×10^{-3} 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，0.05mL；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：样品质量，g；500：细菌或细胞总数，500万。

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），所以在测定样品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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com