

## 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，在氨同化和转化成有机氮化合物的代谢中起重要作用。

GDH催化 $\text{NH}_4^+$ 、 $\alpha$ -酮戊二酸和NADH，生成谷氨酸和 $\text{NAD}^+$ ，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 $\mu$ L样本和190 $\mu$ 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 $\Delta A=A_1-A_2$ 。

#### 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。

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

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。



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

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

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,  $2 \times 10^{-4}\text{L}$ ;  $\epsilon$ : NADH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3\text{L/mol/cm}$ ; 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,  $2 \times 10^{-4}\text{L}$ ;  $\epsilon$ : NADH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3\text{L/mol/cm}$ ; 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  $\Delta A$  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

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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com