NADH-Glutamic Acid Dehydrogenase Content Assay Kit

NADH-谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1780A	NADH-谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)活性检测试剂盒 分光法	48T

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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	70mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	10mL×1瓶	4℃保存	浓度为1M
试剂二	5mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	2.2mL×1支	4℃保存	
标准品	粉末×1支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

【注】：粉剂量在 mg 级别，使用前用手甩几次或者进行离心，打开直接加入要求的试剂即可。

使用方法：

一、样本准备

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. 组织样本：

(a) 称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆；

(b) 12000rpm 4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

2. 细胞/细菌样本：

(a) 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；

(b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；

(c) 12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，按照每 0.5~1×10^7 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本：

直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

二、样品测定

1. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 450nm，蒸馏水调零。

2. 在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
提取液	320

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。

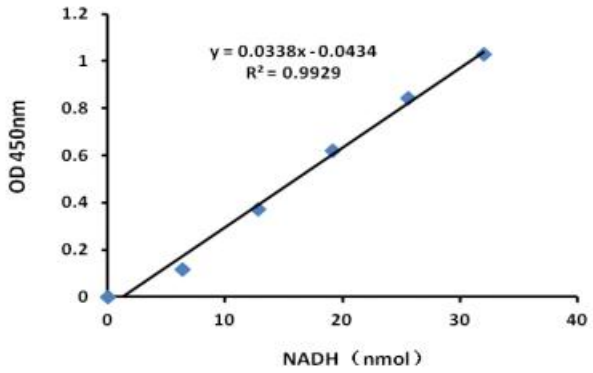
试剂一	200
试剂二	80
样本	160
试剂三	40
混匀，立即 450nm 下读取 A1 值，15min 后读取 A2 值。ΔA=A 2-A1。	

【注】：1.若ΔA 值小于 0.01，可以延长反应时间 T（如由 15min 增至 30min 或 1 小时），或增加加样体积 V1（如由 160μL 增至 320μL，则提取液相应减少），则改变后的 T 和 V1 需要代入计算公式重新计算。

2.若立即读值导致上升趋势不稳定，可加完所有试剂混匀后静置 5min 后再读取 A1；也可选取一段线性上升的时间段来参与计算，相对应的 A 值也代入计算公式重新计算。

三、结果计算

1. 标准曲线：y =0.0338x - 0.0434，x 是 NADH 摩尔质量（nmol），y 是ΔA。



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+0.0434)÷0.0338]÷(V1×Cpr)÷T

=12.33×(ΔA+0.0434)÷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+0.0434)÷0.0338]÷(W×V1÷V)÷T

=12.33×(ΔA+0.0434)÷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+0.0434)÷0.0338]÷(500×V1÷V) ÷T

=0.025×(ΔA+0.0434)

5. 液体中 NADH-GDH 活力的计算：

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+0.0434)÷0.0338]÷V1÷T=12.33×(ΔA+0.0434)

V---加入提取液体积，1 mL　　V1---加入样本体积，0.16mL

T---反应时间，15 min　　W---样本质量，g

00---细菌或细胞总数，500 万　　Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL

附：标准曲线制作过程：

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。

1. 制备标准品母液（0.5nmol/μL）：向标准品离心管里面加入 1.41ml 蒸馏水（母液需在两天内用且-20℃保存）。
2. 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0，0.04，0.08，0.12，0.16，0.2.nmol/μL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4℃保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。