

NADH-Glutamic Acid Dehydrogenase Content Assay Kit

NADH-谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1780B	NADH-谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)活性检测试剂盒 微板法	96T

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	110mL×1瓶	4°C保存	
试剂一	5mL×1瓶	4°C保存	浓度为1M
试剂二	2mL×1瓶	4°C保存	
试剂三	1mL×1支	4°C保存	
标准品	粉末×1支	4°C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:

- 称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆；
- 12000rpm 4°C离心 10min，取上清液，置冰上待测。

2. 细胞/细菌样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 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）；
- 12000rpm 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 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

- 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm。
- 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管
提取液	80

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。



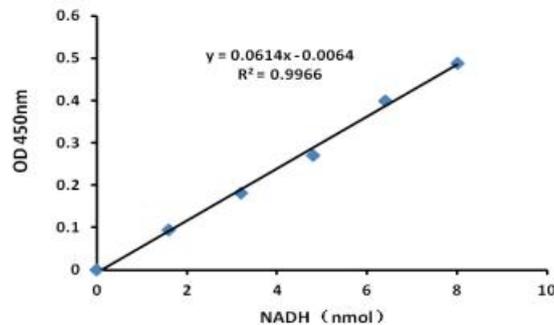
试剂一	50
试剂二	20
样本	40
试剂三	10
混匀，立即 450nm 下读取 A1 值，15min 后读取 A2 值。ΔA=A2-A1。	

【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 40μL 增至 80μL，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 = 0.0614x - 0.0064，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。

$$\text{NADH-GDH}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0064) \div 0.0614] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T$$

$$= 27.14 \times (\Delta A + 0.0064) \div \text{Cpr}$$

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。

$$\text{NADH-GDH}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0064) \div 0.0614] \div (W \times V1 \div V) \div T$$

$$= 27.14 \times (\Delta A + 0.0064) \div W$$

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。

$$\text{NADH-GDH}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0064) \div 0.0614] \div (500 \times V1 \div V) \div T$$

$$= 0.0543 \times (\Delta A + 0.0064)$$

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。

$$\text{NADH-GDH}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0064) \div 0.0614] \div V1 \div T = 27.14 \times (\Delta A + 0.0064)$$

V---加入提取液体积，1 mL

T---反应时间，15 min

500---细菌或细胞总数，500 万

V1---加入样本体积，0.04mL

W---样本质量，g

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL

附：标准曲线制作过程：

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

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。



- 用且-20°C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°C保存六个月。

