

NADH-谷氨酸脱氢酶(NADH-GDH)试剂盒

- 【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(EC1.4.1.2)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。

【货号】 TPL003

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
提取液	液体110mL×1瓶	4℃	
试剂一	液体5mL×1瓶	4℃	浓度为1M
试剂二	液体2mL×1支	4℃	
试剂三	液体1mL×1支	4℃	
标准品	粉剂mg×1支	4℃	若重新做标曲,则用到该试剂

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备：

①组织样本:称取约0.1g 组织(水分多的样本取0.5g)，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,300W，超声3s,间隔 7s，总时间3min)；12000rpm，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

注:若增加样本量，按照细菌/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、上机测定：

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(uL)	测定管
提取液	80
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。 $\Delta A=A2-A1$ 。	

③标准曲线结果计算①由标准品测定获得，如需重制见随货说明书或咨询。

3、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 。

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1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

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

③按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟生成1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

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

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1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{NADH-GDH (nmol/min/10}^4\text{cell)} = [(\Delta A + 0.0064) \div 0.0614] \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ = 0.0543 \times (\Delta A + 0.0064)$$

⑤按液体体积计算：

单位定义：每毫升液体每分钟生成1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

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

V--提取液体积, 1mL;

V1--加入样本体积, 0.04 mL;

500--细胞数量, 万;

T--反应时间, 15min;

Cpr--样本蛋白质浓度, mg/mL; W--样本质量, g;

- 【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。
-