

(本试剂盒仅供体外研究使用,不用于临床诊断!)

谷氨酸脱氢酶测定试剂盒 Glutamate Dehydrogenase(GDH) Assay Kit

产品货号: BC00048

产品规格: 50T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题,请通过以下方式联系我们:

☑邮箱 (销售) order@enkilife.cn ☑邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

圖公司电话 027-87002838

订阅微信公众号 获取更多技术 信息及前沿动态

保质期:请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	谷氨酸脱氢酶测定试剂盒		
产品英文名称	Glutamate Dehydrogenase(GDH) Assay Kit		
检测方法	Colorimetric		
样品类型	组织、血清、血浆		
检测类型	Quantitative		
检测仪器及波长	酶标仪(450nm-490nm 均可,470nm 处最佳)		

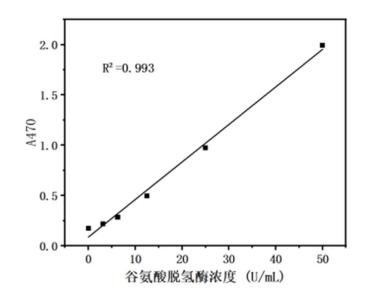
产品简介

谷氨酸脱氢酶 (Glutamate Dehydrogenase, GDH) 可以催化谷氨酸可逆氧化脱氨为α-酮戊二酸,是碳代谢和氮代谢过程中得一个关键酶。血清中 GDH 活性可作为肝细胞癌变的重要指标之一,同时也为其他疾病的诊断提供一定的应用价值。

检测原理

GDH 催化谷氨酸脱氢,将 NAD+还原成 NADH; 生成的 NADH 在电子传递物质的作用下将 WST-8 还原生成橙黄色物质,该物质在 450nm 左右检测有最大吸收峰,根据吸光度变化速率来反映出样本酶活力大小。

下图展示了本试剂盒测定谷氨酸脱氢酶的标准曲线:



产品组分

编号	产品名称	包装规格 (50T)	包装规格 (100T)	保存方式
试剂一	提取液	25 mL	50 mL	4℃,避光。
试剂二	缓冲液	7.5 mL	15 mL	4°C
试剂三	底物 A	粉剂	粉剂×两支	4°C
试剂四	底物 B	2.5 ml	5 ml	4°C
试剂五	显色剂	1.2 mL	1.2 mL×2 支	4℃,避光。
试剂六	标准品 (50U/mL)	1 mL	1 mL	4℃,避光。
耗材一	96 孔酶标板	1 板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	2 张	RT

保存条件

4°C 保存, 六个月有效。

实验前准备

• 样品处理

- 1. 血清血浆样本:可直接测定。若样本浑浊,可 10000×g 离心 10 min 后取澄清部分使用)。
- 2. 匀浆介质为试剂一, 若离心后上清液浑浊, 可将上清反复离 心至清澈, 取上清待用, 留取部分上清检测蛋白浓度。
- 3. 样本的稀释:在正式检测前,需选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验。

注:稀释液为生理盐水 (0.9% NaCl)。

• 试剂盒的准备工作

- 1. 检测前,试剂盒中的试剂平衡至室温。
- 2. 试剂三工作液配制:取一支试剂三,加入1.5 mL双蒸水溶解,置于冰盒上待用,2-8°

C 避光保存 7 天。

- 试剂四工作液配制:按试剂三工作液:试剂四=1:2的体积比混匀,现配现用,按需配制,
 12小时内使用完毕。
- 4. 试剂五工作液配制:按试剂二:试剂五=6:1的体积比混匀,现配现用,按需配制,避光保存,当天使用完毕。
- 5. 标准品配制:将标准品按照对半稀释法,用试剂一稀释成不同浓度如 50、25、12.5、6.25、3.125、0 U/mL。

操作流程

- 1. 标准孔: 取 20 μL 不同浓度标准品加入到相应标准孔中。 对照孔: 取 20 μL 待测样本加入到相应对照孔中。 测定孔: 取 20 μL 待测样本加入到相应测定孔中。
- 2. 向步骤(1)中对照孔加入 60 µL 双蒸水,测定管和标准孔中加入 60 µL 试剂四工作液。
- 3. 向步骤(2)各孔加入 140 µL 试剂五工作液。
- 4. 振板 5 s, 37°C 避光孵育 20 min(可适当缩减时间), 酶标仪 450 nm 处测定各孔 OD 值。

	标准孔	对照孔	测定孔
不同浓度的标准品溶液(µL)	20		
待测样本(μL)		20	20
双蒸水(µL)		60	
试剂四工作液(µL)	60		60
试剂五工作液(μL)	140	140	140

结果计算

标准品拟合曲线: y = ax + b

1、组织样本中谷氨酸脱氢酶酶活:

定义: 37°C 条件下, 每克组织蛋白每分钟水解底物生成 1 μmol 产物所需 要的 GDH 酶活

定义为一个酶活力单位。

GDH 活力 (U/gprot) = ($\Delta A - b$) /a ÷ Cpr ÷ T × f × 1000*

2、血清血浆中谷氨酸脱氢酶酶活:

定义: 37°C 条件下,每升血清/血浆样本每分钟水解底物生成 1 μmol 产 物所需要的 GDH 酶活为一个活力单位。

GDH 活力 (U/L) = ($\Delta A - b$) /a ÷ T × f × 1000*

注解:

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x:标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA450: 样本 OD 值-空白 OD 值(标准浓度为 0 时的 OD 值)

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

Cpr: 待测样本的蛋白浓度(mg/mL)

T: 孵育反应时间

 $1000*: 1 \text{ mmol/L} = 1000 \text{ } \mu \text{mol/L}$

注意事项

- 1. 酶标仪最佳检测波长为 470 nm, 450nm-490nm 范围内检测均可。
- 2. 试剂三、配制后的标准品溶液 2-8°C 避光保存, 当天使用完毕。
- 3. 试剂五工作液现配现用,避光保存,当天使用完毕。
- 4. 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, 不得存放于普通住宅内。