

谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

货号：BC1460

规格：50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	-20℃保存

溶液的配制：

工作液的配制：临用前将试剂一加入试剂二中混合溶解，置于37℃水浴5min。

产品说明：

GDH（EC 1.4.1.2）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，在氨同化和转化有机氮化合物的代谢中起重要作用。

GDH催化 NH_4^+ 、 α -酮戊二酸和NADH，生成谷氨酸和 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。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、移液器、1mL石英比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

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 200W，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. 紫外分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。

2. 样本测定：

取1mL工作液和0.05mL样本于光径为1 cm的1mL石英比色皿中，混匀，加样本的同时开始计时，在340nm波长下记录20秒时的初始吸光度A1和5分20秒时的吸光度A2，计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

三、GDH 活性计算

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。

$$\text{GDH (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 675 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本质量计算





单位的定义：每g组织每分钟消耗1 nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/g 质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 675 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌或细胞密度计算

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。

$$\text{GDH (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 1.35 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积， 1.05×10^{-3} L； ϵ ：NADH摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；

V样：加入样本体积，0.05mL；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。

注意事项：

1. 当 ΔA 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。

相关发表文献：

- [1] Tong D, Zhu Z, Wu J, Li F, Shen J, Cao J, Tang Y, Liu G, Hu L, Shi W. Impacts of ammonia stress on different Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* families and the underlying adaptive mechanisms. *Aquat Toxicol.* 2023 Jun;259:106549. doi: 10.1016/j.aquatox.2023.106549. Epub 2023 Apr 27. PMID: 37150124.
- [2] Ahmad S, Wang GY, Muhammad I, Zeeshan M, Zhou XB. Melatonin and KNO₃ Application Improves Growth, Physiological and Biochemical Characteristics of Maize Seedlings under Waterlogging Stress Conditions. *Biology (Basel).* 2022 Jan 9;11(1):99. doi: 10.3390/biology11010099. PMID: 35053096; PMCID: PMC8773118.
- [3] Xu H, Li Y, Gao R, Xu R, Guo G, Lu R, Halford NG, Chen Z, Liu C. Rapid Generation and Analysis of a Barley Doubled Haploid Line with Higher Nitrogen Use Efficiency Than Parental Lines by F1 Microspore Embryogenesis. *Plants (Basel).* 2021 Aug 1;10(8):1588. doi: 10.3390/plants10081588. PMID: 34451633; PMCID: PMC8401716.
- [4] Chen T, Zhao MX, Tang XY, Wei WX, Wen X, Zhou SZ, Ma BH, Zou YD, Zhang N, Mi JD, Wang Y, Liao XD, Wu YB. The tetracycline resistance gene tetX has an expensive fitness cost based on increased outer membrane permeability and metabolic burden in *Escherichia coli*. *J Hazard Mater.* 2023 Sep 15;458:131889. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.131889. Epub 2023 Jun 19. PMID: 37348375.
- [5] Chen W, Liu J, Chu G, Wang Q, Zhang Y, Gao C, Gao M. Comparative evaluation of four *Chlorella* species treating mariculture wastewater under different photoperiods: Nitrogen removal performance, enzyme activity, and antioxidant response. *Bioresour Technol.* 2023 Oct;386:129511. doi: 10.1016/j.biortech.2023.129511. Epub 2023 Jul 17. PMID: 37468008.

参考文献：

- [1] Wen J F, Gong M, Liu Y, et al. Effect of hydrogen peroxide on growth and activity of some enzymes involved in proline metabolism of sweet corn seedlings under copper stress[J]. *Scientia horticulturae*, 2013, 164: 366-371.

相关系列产品：

BC0080/BC0085 硝酸还原酶（NR）活性检测试剂盒

BC1450/BC1455 谷氨酰胺酶（GLS）活性检测试剂盒

BC1480/BC1485 水土中亚硝酸盐含量检测试剂盒



本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。

For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.