

谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号：BC1465

规格：100T/96S

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 100 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 20 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：在试剂二中加入19mL试剂一充分溶解，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，在氮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/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔UV板、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/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。

2. 样本测定：

在微量石英比色皿或96孔UV板中加入10μL样本和190μL工作液，混匀，立即记录340 nm处20 s时的吸光值A1和5 min20 s后的吸光值A2，计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

三、GDH 活性计算

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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。

$\text{GDH (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 643 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

2. 按样本质量计算





单位的定义：每g组织每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/g 质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 643 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每1万个细菌或细胞在反应体系中每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 1.286 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} 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，0.01mL；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； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

b.用96孔UV板测定的计算公式如下

4. 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。

$$\text{GDH (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 1072 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

5. 按样本质量计算

单位的定义：每g组织每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/g 质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1072 \times \Delta A \div W$$

6. 按细菌或细胞数量计算

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。

$$\text{GDH (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 2.144 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96孔板光径，0.6cm；V样：加入样本体积，0.01mL；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； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

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] Liu J, Wang J, Wang Z, Li M, Liang C, Yang Y, Li D, Wang R. Alleviation of iron deficiency in pear by ammonium nitrate and nitric oxide. BMC Plant Biol. 2022 Sep 12;22(1):434. doi: 10.1186/s12870-022-03826-z. PMID: 36089596; PMCID: PMC9465966.
- [2] Xu WB, Zhang YM, Li BZ, Lin CY, Chen DY, Cheng YX, Guo XL, Dong WR, Shu MA. Effects of low salinity stress on osmoregulation and gill transcriptome in different populations of mud crab Scylla paramamosain. Sci Total Environ. 2023 Apr 1;867:161522. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.161522. Epub 2023 Jan 10. PMID: 36634766.
- [3] Hu Q, Lei J, Cheng Z, Xu J, Wang L, Yuan Y, Gan M, Wang Y, Xie Y, Yao L, Wang K, Liu Y, Xun W, Wang JB, Han T. STUB1-mediated ubiquitination regulates the stability of GLUD1 in lung adenocarcinoma. iScience. 2023 Jun 15;26(7):107151. doi: 10.1016/j.isci.2023.107151. PMID: 37416474; PMCID: PMC10319899.
- [4] Pan L, Yang L, Yi Z, Zhang W, Gong J. TBK1 participates in glutaminolysis by mediating the phosphorylation of RIPK3 to promote endotoxin tolerance. Mol Immunol. 2022 Jul;147:101-114. doi: 10.1016/j.molimm.2022.04.009. Epub 2022 May 6. PMID: 35533409.
- [5] Chen C, Chu Y, Huang Q, Zhang W, Ding C, Zhang J, Li B, Zhang T, Li Z, Su X. Morphological, physiological, and transcriptional responses to low nitrogen stress in Populus deltoides Marsh. clones with contrasting nitrogen use



efficiency. BMC Genomics. 2021 Sep 27;22(1):697. doi: 10.1186/s12864-021-07991-7. PMID: 34579659; PMCID: PMC8474845.

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

