



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: shyysw@sina.com

---

## 谷氨酸脱氢酶 (Glutamate Dehydrogenase)

### 1 原理

$\alpha$ -Ketoglutarate + NH<sub>3</sub> + NADH + H<sup>+</sup> + L-Glutamate + NAD<sup>+</sup> + H<sub>2</sub>O

NADH 的消耗可以通过 340nm 的光吸收进行检测。

### 2 试剂:

A 0.1 M Tris-HCl 缓冲液, pH 8.3

B 1.5M NH<sub>4</sub>Cl 溶液

C 0.225M  $\alpha$ -酮戊二酸溶液(pH 7.0-9.0)

D 7.5mM NADH 溶液

E 酶稀释液: 0.1 M Tris-HCl 缓冲液, pH 8.3

### 3 操作规程:

#### 3.1 仪器参数设定

若仪器中无已保存参数, 按以下参数设定。若已有相关参数, 调取后确认。

检测方法: 动力学扫描

测量波长: 340nm 测量时间: 180s

延迟时间: 60s 积分时间: 120s

系数/因子: 6.776 测量温度: 30±1℃

#### 3.2 样品准备

若待测样品为固体, 可以按 10mg 样品/1000ul 超纯水比例溶解。溶解后于 2-8 度放置 30min。

#### 3.3 检测方法



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: shyysw@sina.com

---

3.3.1 在石英比色皿中加入 2.5ml 试剂 A, 200ul 试剂 B, 100ul 试剂 C, 100ul D 于 30 度孵育 2min。

3.3.2 加入 50ul 样品后, 温和混匀后开始测定。

3.3.3 测定结束后, 记录相应数值: 起始读数、 $\Delta A/\text{min test}$ 、活性值 (U/ml)。

3.3.4 活性值 (U/ml) 范围为 0.1-0.5U/ml, 若超出范围, 待测样品需经试剂 D 稀释后再次进行检测。

3.3.5 测定样品前需检测空白反应值, 即其他操作不变, 用 50ul E 代替样品加入比色皿后进行反应, 测定  $\Delta A/\text{min blank}$ 。

3.3.6 计算公式 活性(U/ml) =  $(\Delta A/\text{min test} - \Delta A/\text{min blank}) \times 6.776 \times \text{df}$  (稀释倍数)