

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K759-M

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 酶标仪(440-460 nm)

Elabscience®谷氨酸脱氢酶(GDH)比色法测试盒

Glutamate Dehydrogenase (GDH) Activity Assay Kit

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：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)、尿液及动物组织样本中谷氨酸脱氢酶(GDH)的活力。

检测原理

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。GDH 催化谷氨酸脱氨, 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。

本试剂盒检测组织样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extraction Solution)	50 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	15 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 A (Substrate A)	粉剂×1 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	底物 B (Substrate B)	5 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	显色剂 (Chromogenic Agent)	1.2 mL×2 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	标准品 (Standard)	粉剂×2 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	96 孔覆膜	2 张	

	样本位置标记表	1 张	
--	---------	-----	--

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(440-460 nm，最佳检测波长 450 nm)，恒温箱(37℃)、匀浆机、低温离心机。

试剂：双蒸水

试剂准备

① 检测前，所有的试剂平衡至室温。

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℃避光保存7天。

③ 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 1 mmol/L标准品配制：

取一支试剂六，加入0.5 mL双蒸水溶解，置于冰盒上待用，2-8℃避光保存七天。

⑥ 不同浓度标准品的稀释:

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.05	0.10	0.20	0.25	0.30	0.40	0.50
1 mmol/L 标准品(μ L)	0	10	20	40	50	60	80	100
双蒸水(μ L)	200	190	180	160	150	140	120	100

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本: 直接测定(若样本浑浊, 可 $10000 \times g$ 离心 10 min 后取澄清部分使用)。

组织样本: 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。

② 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, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.54-25.0 U/L, 请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%大鼠肝组织	3-5	10%大鼠肾组织	不稀释
10%大鼠心组织	不稀释	10%大鼠脑组织	不稀释
10%大鼠脾组织	不稀释	10%大鼠肺组织	不稀释
10%小鼠肝组织	不稀释	10%小鼠肾组织	不稀释
10%小鼠脾组织	不稀释	10%小鼠肺组织	不稀释
人血清	不稀释	人血浆	不稀释
大鼠血清	不稀释	大鼠血浆	不稀释

注: 稀释液为试剂一。

实验关键点

- ① 试剂三、配制后的标准品溶液 2-8℃ 避光保存，一周内使用完毕。
- ② 试剂五工作液现配现用，避光保存，当天使用完毕。

操作步骤

- 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℃ 避光孵育 20 min, 酶标仪 450 nm 处测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	对照孔	测定孔
不同浓度标准品(μL)	20	--	--
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
振板 5 s, 37℃ 避光孵育 20 min, 酶标仪 450 nm 处测定各孔 OD 值。			

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

组织样本中谷氨酸脱氢酶酶活:

定义: 37℃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。

$$\text{GDH 活力} \frac{\Delta A - b}{a} \div C_{pr} \div T \times f \times 1000^*$$

(U/gprot)

血清血浆中谷氨酸脱氢酶酶活:

定义: 37℃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。

$$\text{GDH 活力} \frac{\Delta A - b}{a} \div T \times f \times 1000^*$$

(U/L)

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 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

ΔA: 样本测定 OD 值-样本对照 OD 值

T: 孵育反应时间, 20 min

C_{pr}: 组织样本蛋白浓度: gprot/L

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

1000*: 1 mmol/L = 1000 μmol/L

附录1 关键数据

1. 技术参数

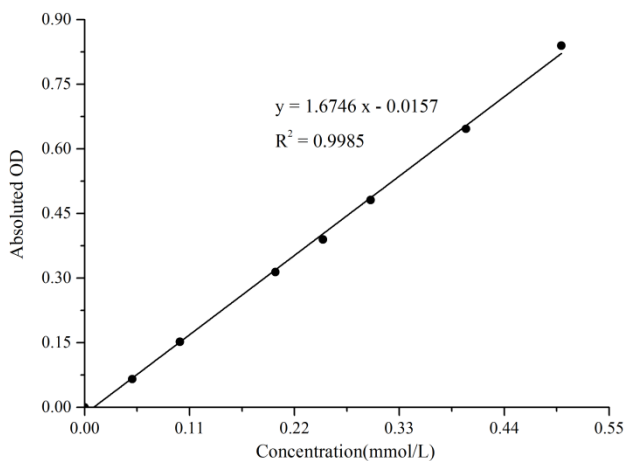
检测范围	0.54-25.0 U/L	平均批间差	4.0 %
灵敏度	0.54 U/L	平均批内差	3.0 %
平均回收率	103 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量20 μ L, 按照操作步骤进行实验, 各管OD值如下表所示:

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.05	0.10	0.20	0.25	0.30	0.40	0.50
OD 值	0.049	0.119	0.196	0.359	0.432	0.529	0.674	0.887
	0.049	0.110	0.206	0.367	0.445	0.532	0.717	0.891
平均 OD 值	0.049	0.115	0.201	0.363	0.439	0.531	0.696	0.889
绝对 OD 值	0.000	0.066	0.152	0.314	0.390	0.482	0.647	0.840

②绘制标准曲线:



附录2 实例分析

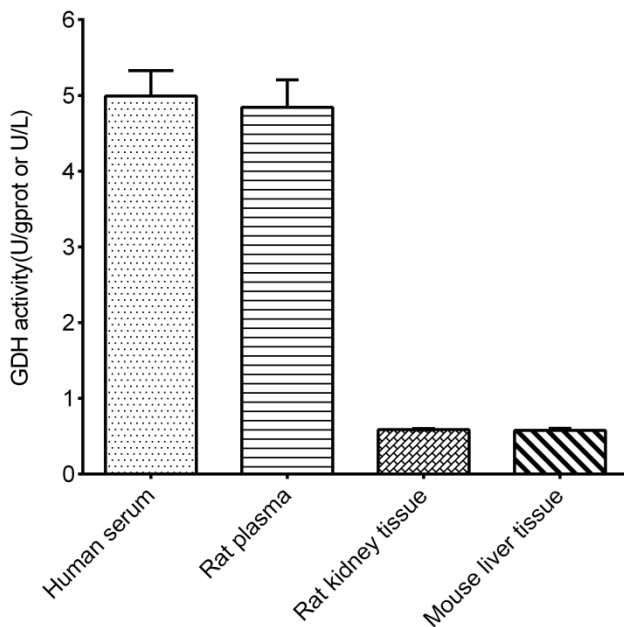
例如检测大鼠肾组织(数据仅供参考):

取10%大鼠肾组织样本,按操作表操作,结果如下:

标准曲线: $y = 1.6746x - 0.0157$, 样本对照孔平均OD值为0.299, 样本测定孔平均OD值为0.554, 10%大鼠肝脏组织匀浆蛋白浓度为13.76 gprot/L计算结果为:

$$\text{GDH 活力 (U/gprot)} = \frac{(0.554 - 0.299) + 0.0157}{1.6746} \div 13.76 \div 20 \times 1000 = 0.59 \text{ U/gprot}$$

按照说明书操作,测定人血清(加样量20 μL)、大鼠血浆(加样量20 μL)、大鼠肾脏组织(10%匀浆蛋白浓度为13.76 gprot/L, 加样量20 μL)、小鼠肝组织(10%匀浆蛋白浓度为20.28 gprot/L, 加样量20 μL)中GDH活力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测试结果偏低	样本稀释倍数较大	增加样本匀浆浓度
	试剂三配制时间过久	试剂三工作液在一周内使用完毕

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Tseng S.Ja. An acid degradable, lactate oxidizing nanoparticle formulation for non-small cell lung cancer virotherapy[J]. Nano Today. IF:18.962
2. Salman T M, Iyanda M A, Alli-Oluwafuyi A M, et al. Telfairia occidentalis stimulates hepatic glycolysis and pyruvate production via insulin-dependent and insulin-independent mechanisms[J]. Metabolism Open, 2021, 10(1-10):100092. IF:8.694
3. Zhang Y, Wang Z, Shi B, et al. Effect of gingival mesenchymal stem cell-derived exosomes on inflammatory macrophages in a high-lipid microenvironment[J]. International Immunopharmacology, 2021, 94(9499):107455. IF:4.932
4. Alsayyah A, ElMazoudy R, Al-Namshan M, et al. Chronic neurodegeneration by aflatoxin B1 depends on alterations of brain enzyme activity and immunoexpression of astrocyte in male rats[J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2019, 182: 109407. IF:4.527
5. Faheem M. Synthesis and Biological Evaluation of Benzimidazole Derivatives as Potential Neuroprotective Agents in an Ethanol-Induced Rodent Model[J]. ACS Chemical Neuroscience, 2021, 12(3):489–505. IF:4.418
6. Ren F , Xu X , Xu J B , et al. Compound essential oils relieve oxidative stress caused by PM 2. 5 exposure by inhibiting autophagy through the AMPK / mTOR pathway[J]. Environmental Toxicology, 2021 Sep; 36(9):1765-1774. IF:4.119
7. Mohsin Alvi A, Tariq Al Kury L, Umar Ijaz M, et al. Post-Treatment of Synthetic Polyphenolic 1, 3, 4 Oxadiazole Compound A3, Attenuated Ischemic Stroke-Induced Neuroinflammation and Neurodegeneration[J]. Biomolecules, 2020, 10(6): 816. IF:4.082
8. Darband S G, Sadighparvar S, Yousefi B, et al. Quercetin attenuated oxidative DNA damage through NRF2 signaling pathway in rats with DMH induced colon carcinogenesis[J]. Life sciences, 2020(253-). IF:3.708
9. Shah F A, Ali T, Khan A U. Potent Natural Antioxidant Carveol Attenuates MCAO-induced Oxidative stress, Neurodegeneration by Regulating the Nrf-2 pathway[J]. Frontiers in Neuroscience, 2020, 14: 659. IF:3.707
10. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al. Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2 diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. Gene, 2020, 768(7):145288. IF:3.688
11. Amany Abdel-Rahman Mohamed , Safaa I. Khater , Ahmed Hamed Arisha , et al. Chitosan-stabilized selenium nanoparticles alleviate cardio-hepatic damage in type 2

- diabetes mellitus model via regulation of caspase, Bax/Bcl-2, and Fas/FasL-pathway[J]. *Gene*, 2020, 768(7):145288. IF:3.688
12. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
 13. Li J, Ma X J, Wu X, et al. Adiponectin modulates steroid hormone secretion, granulosa cell proliferation and apoptosis via binding its receptors during hens' high laying period[J]. *Poultry Science*, 2021, 100(7): 101197. IF:3.352
 14. Fu H, Liu L, Tong Y, et al. The antidepressant effects of hesperidin on chronic unpredictable mild stress-induced mice[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2019. IF:3.04
 15. Guo Y, Liu C, Zhang J, et al. A relationship between MAPK/ERK pathway expression and neuronal apoptosis in rats with white matter lesions[J]. *European review for medical and pharmacological sciences*, 2020, 24(8): 4412-4419. IF:3.024
 16. Li L C , Dong S H , Li S H , et al. Downregulation of circular RNA circDOCK7 identified from diabetic rats after sleeve gastrectomy contributes to hepatocyte apoptosis through regulating miR-139-3p and MCM3[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2021, 548:134-142. IF:2.985
 17. Kumar S, Ivanov S, Lagunin A, et al. Attenuation of Hyperhomocysteinemia Induced Vascular Dementia by Sodium Orthovanadate Perhaps via PTP1B: Pertinent Downstream Outcomes[J]. *Behavioural Brain Research*, 2019. IF:2.77
 18. Yin X, Zhao J, Jiang H, et al. Impact of Xenon on CLIC4 and Bcl-2 Expression in Lipopolysaccharide and Hypoxia-Ischemia-Induced Periventricular White Matter Damage[J]. *Neonatology*, 2018. IF:2.554
 19. Pan H Z, Zhang L J, Liu Y W, et al. Cold-inducible RNA binding protein agonist enhances the cardioprotective effect of UW solution during extended heart preservation[J]. *Artificial Organs*, 2020. IF:2.259
 20. Uysal N, Yuksel O, Kizildag S, et al. Regular Aerobic Exercise Correlates with Reduced Anxiety and Increased Levels of Irisin in Brain and White Adipose Tissue[J]. *Neuroscience Letters*, 2018. IF:2.173
 21. Jasiński Tomasz , Bręborowicz Andrzej . Hyaluronan reduces colitis-induced intraperitoneal inflammation during peritoneal dialysis[J]. *Peritoneal Dialysis International*, 2021. IF:1.756

22. Yin S, Feng Z, Mo A, et al. Effect of Shenfu Injection on Isolated Empty Beating Hearts from Miniature Pigs[J]. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 2020 (AHEAD). IF:1.053
23. Olakanmi Bodun O, Olorundare Olufunke E, Afolabi Olanrewaju O, et al. Assessment of the Effects of Crude Methanolic Extracts (Leaf and Twig) of *Loranthus micranthus* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats[J]. *Journal of Diabetes and Islet Biology*, 2020, 10: 2641-8975.