

谷氨酸脱氢酶（GLDH）测定试剂盒（α-酮戊二酸底物法）说明书

【产品名称】

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHG3-M48	谷氨酸脱氢酶（GLDH）	48T	微量法
AMHG3-M96	活性检测试剂盒	96T	微量法

【预期用途】

用于体外定量测定人血清中谷氨酸脱氢酶的活性。
谷氨酸脱氢酶是一种主要存在于细胞线粒体基质中的酶，其中以肝脏含量最高，其次为肾脏、胰腺、脑、小肠粘膜及心脏等器官。GLDH 作为肝脏线粒体酶，是实质肝脏细胞坏死的指标，结合氨转移酶，可以判断肝脏实质性损害的轻重程度。在诸多肝脏疾病中均可能出现升高，尤其是肝脏细胞明显损害时，如酒精性肝损害、急慢性肝炎、肝硬化、阻塞性黄疸等。

【检验原理】

$$\alpha\text{-酮戊二酸} + \text{NADH} + \text{NH}_4^+ \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{谷氨酸} + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$$

在 340nm 测定 NADH 的变化，吸光度下降的速率与样品中 GLDH 活性成正比。

【主要组成成分】

试剂盒组成	主要组分
试剂 1	三乙醇胺缓冲液
	醋酸铵
	乙二胺四乙酸
	α-酮戊二酸
试剂 2	三乙醇胺缓冲液
	二磷酸腺苷
	还原性辅酶I

【样本要求】

1、组织：按照组织质量（g）:提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。
5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、血清（浆）等液体：直接测定。

【检验方法】

- 试剂配制：双试剂反应：试剂 1 和试剂 2 开瓶即用。
- 试验条件：（可根据不同检测仪器索取不同的上机参数）

主波长	340nm	样品	16μL
-----	-------	----	------

副波长	405nm	试剂 1	150μL
反应温度	37℃	试剂 2	50μL
比色杯光径	1cm	反应类型	速率法
校准方法	两点校准	反应方向	向下

3.操作步骤：

加入物	空白管	测定管
试剂 1	150μL	150μL
蒸馏水	16μL	-
标本	-	16μL
混匀，37℃孵育 3~5min		
试剂 2	50μL	50μL
混匀，37℃恒温 100s,再读取之后 200s 内吸光度变化率 ΔA/min		

【谷氨酸脱氢酶（GLDH）活性计算】

1、按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化 1 微摩尔（μmol）NADH 氧化为 NAD⁺所需的酶量。

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

2、按样本质量计算

单位定义：每克组织每分钟催化 1 微摩尔（μmol）NADH 氧化为 NAD⁺所需的酶量。

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

3、血清（浆）等液体计算

单位定义：每毫升液体每分钟催化 1 微摩尔（μmol）NADH 氧化为 NAD⁺所需的酶量。

$$\text{GLDH(U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，216×10⁻³ L； ϵ ：NADH 的摩尔吸光系数（6.22×1036.22×10³）L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.016mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，3min；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol；W：样本质量，g；