

谷氨酸脱氢酶(GLDH)检测试剂盒

(用于血清、血浆、细胞培养上清液和其它生物体内)

原理

谷氨酸脱氢酶(GLDH 或 GDH)是线粒体酶, 主要存在于肝脏、心肌及肾脏, 少量存在于脑、骨骼肌及白细胞中。GDH 除催化 L-谷氨酸脱氢外, 还具有催化其他氨基酸如 L-缬氨酸、L-2-氨基丁酸及 L-亮氨酸脱氢。其测定方法主要是连续监测法。

本实验采用比色法在酶标板上反应, 标准品和样品中的 GLDH 与底物工作液显色, 在 490nm 处测 OD 值, GLDH 浓度与 OD 值成正比, 可通过绘制标准曲线求出标本中 GLDH 浓度。

试剂盒组成 (2-8℃保存)

酶标板 (Coated Wells)	96孔	标准品 (Standards): 2000U/L	0.5ml
底物工作液 (INT Solution)	12ml	酶标抗体工作液 (Enzyme Conjugate)	1.2ml

准备试剂与收集血样

1. 收集标本: 血清、血浆 (EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝)、细胞培养上清液、组织匀浆等尽早检测, 2-8℃保存 48 小时; 更长时间须冷冻 (-20℃或-70℃) 保存, 避免反复冻融。
2. 标准品液配制: 设标准管 8 管, 第一管加蒸馏水 900ul, 第二至第八管加入蒸馏水 500ul。在第一管中加入 2000U/L 的标准品溶液 100ul 混匀后用加样器吸出 500ul, 移至第二管。如此反复作对倍稀释, 从第七管中吸出 500ul 弃去。第八管为空白对照。

检测程序

1. 加样: 每孔各加入标准品或待测样品 5ul。
2. 每孔加入底物工作液 100ul。37℃孵育 5 分钟读取 OD 值 A1。
3. 每孔加酶标抗体工作液 10ul。振荡混匀后将反应板置 37℃15 分钟。
4. 30 分钟内用酶标仪在 490nm 处测吸光值 A2。

结果计算与判断

1. 所有 OD 值都应用 A2 减去 A1 后再行计算。
2. 以标准品 200、100、50、25、12.5、6.25、3.12、0 U/L 为横坐标, OD 值为纵坐标, 在坐标纸上作图, 画出标准曲线。
3. 根据样品 OD 值在该曲线图上查出相应 GLDH 含量。

试剂盒性能

1. 灵敏度: 最小的 GLDH 检测浓度小于 2U/L。
2. 特异性: 可同时检测重组或天然的 GLDH。不与其他细胞因子有交叉反应。
3. 重复性: 板内、板间变异系数均小于 10%。

注意事项

1. 以上标准孔及待测样品均建议做复孔, 每次测定应同时做标准曲线。
2. 板条开封后剩余板条要再封好, 保持板条干燥。
3. 本试剂盒宜置 4℃冰箱保存。
4. 本试剂盒仅用于科研, 不能用于临床诊断!
5. 样本如果浑浊需要离心或稀释后检测。