

葡萄糖脱氢酶 (GCDH) 活性检测试剂盒(紫外分光光度法)

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1248

产品规格：50管/48样

产品简介：

GCDH (EC 1.1.1.47) 催化D-葡萄糖和NAD(P)生成D-葡萄糖酸和NAD(P)H，主要存在于多种微生物和高等动物的肝脏中。GCDH是一种制备高含量低聚果糖的理想用酶，同时也是临床血糖测定的诊断用酶，可广泛用于食品工业及医药工业领域中。

GCDH 催化D-葡萄糖和NAD生成D-葡萄糖酸和NADH，利用NADH在340 nm处吸光值的变化即可反映葡萄糖脱氢酶的活性。

产品内容：

提取液：液体60 mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体50 mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前加入15mL试剂一溶解，用不完的试剂4℃保存。

试剂三：粉剂×2瓶，-20℃避光保存。临用前每瓶加入5mL试剂一溶解，用不完的试剂建议分装后-20℃避光保存，避免反复冻融。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、台式低温离心机、水浴锅、1 mL石英比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

组织：按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为1 : 5~10的比例 (建议称取约0.1 g组织，加入1 mL提取液) 进行冰浴匀浆，然后，8000 g，4℃，离心10 min，取上清置于冰上待测。

细胞或细菌：先收集细胞或细菌到离心管内，离心后弃上清；按照细胞数量 (10⁴个) : 提取液体积 (mL) 为500~1000 : 1的比例 (建议500万个细胞或细菌加入1mL提取液)，冰浴超声波破碎细胞或细菌 (功率20%或200 W，超声3s，间隔7s，总时间5min)；然后8000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。

血浆 (清)：直接检测。

二、测定步骤：

1、分光光度计预热30min以上，调节波长至340 nm，蒸馏水调零。

2、工作液的配制：按照试剂一：试剂二：试剂三为4：3：2的体积比例充分混匀，备用，用前37℃预热10 min。

3、操作表：在1mL石英比色皿中分别加入下列试剂：

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
工作液	900	900
样本		100
蒸馏水	100	

加入样本即开始计时，立即混匀，于340nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37℃水浴或培养箱1min，拿出迅速擦干测定1min 10s 时的吸光值A2，计



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

算 ΔA 测定管= A_2 测定- A_1 测定, ΔA 空白管= A_2 空白- A_1 空白, $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管。空白管只需做1-2次。

三、GCDH 酶活计算:

(1) 按蛋白浓度计算

酶活定义: 每毫克蛋白每分钟产生1nmol 的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH 酶活 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 1607.7 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算

酶活定义: 每克样品每分钟产生1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH 酶活 (U/g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 1607.7 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细菌和细胞数量计算

酶活定义: 每 10^4 个细胞每分钟产生1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{GCDH 酶活 (U/10}^4 \text{cell)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量 (万个)}) \div T \\ &= 1607.7 \times \Delta A \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

(4) 按液体体积计算

酶活定义: 每mL样本每分钟产生1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH 酶活 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 1607.7 \times \Delta A$$

ϵ : NADH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm; d : 比色皿光径, 1cm; 10^9 : 单位换算系数, 1mol= 10^9 nmol;
 $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 1×10^{-3} L; $V_{\text{样}}$: 反应体系中样本体积, 0.1mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g, T : 反应时间: 1min。

注意事项:

- 1、样本提取上清液置于冰上待测, 且样本提取完成后建议当天提取当天内测完。
- 2、当 A_1 或 A_2 大于1时, 建议将样品用提取液稀释后再进行测定。
- 3、当 ΔA 大于1时, 建议将样品用提取液稀释后再进行测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com