

葡萄糖脱氢酶（GCDH）检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1249

产品规格：100管/96样

产品简介：

GCDH (EC1.1.1.47) 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340nm处吸光值的变化即可反映葡萄糖脱氢酶的活性。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|------------|------|
| 提取液 | 液体100mL×1瓶 | 4℃ |
| 试剂一 | 液体25mL×1瓶 | 4℃ |
| 试剂二 | 粉剂×1瓶 | 4℃ |
| 试剂三 | 粉剂×1瓶 | -20℃ |

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入7.5mL试剂一溶解，用不完的试剂4℃保存；
2. 试剂三：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；
3. 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，现用现配，用前37℃预热10min。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、台式低温离心机、水浴锅、微量石英比色皿/96孔UV板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样品处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆，然后，8000g，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（ 10^4 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200W，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。

血清（浆）：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 操作表：在微量石英比色皿/96孔UV板中分别加入下列试剂：

| 试剂名称（ μ L） | 空白管 | 测定管 |
|----------------|-----|-----|
| 工作液 | 180 | 180 |
| 蒸馏水 | 20 | |
| 样本 | - | 20 |



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

加入工作液即开始计时，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（酶标仪有控温功能可将温度调至37℃），拿出迅速擦干测定1min 10s时的吸光值A2，计算 ΔA 测定管=A2测定-A1测定， ΔA 空白管=A2空白-A1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

A、按微量石英比色皿计算：

1. 按样本蛋白浓度计算

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。

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

2. 按样本质量计算

酶活定义：每克样本每分钟产生1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

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

3. 按细胞或细胞数量计算

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, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 比色皿光径, 1 cm ; 10^9 : 单位换算系数, $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$;
 $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, $2 \times 10^{-4} \text{ L}$; $V_{\text{样}}$: 反应体系中样本体积, 0.02 mL ; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL ; Cpr : 样本蛋白浓度, mg/mL ; W : 样本质量, g ; T : 反应时间, 1 min 。

B、按96孔UV板计算：

将上述公式中的 $d=1 \text{ cm}$ 改为 $d=0.6 \text{ cm}$ （96孔板光径）进行计算即可。

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A1或A2大于1.7时，建议将样本用提取液稀释后再进行测定。
3. 当 ΔA 大于1.5时，建议将样本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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com