

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，计算ΔA测定管=A2测定-A1测定，ΔA空白管=A2空白-A1空白，ΔA=ΔA测定管		



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779
Q Q：807961520 731791866
邮箱：shsunbao@126.com
http://www.saint-bio.com

-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10⁴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, 6.22×10³ L/ mol /cm; d: 比色皿光径, 1cm; 10⁹: 单位换算系数, 1mol=10⁹ nmol;
V反总: 反应体系总体积, 1×10⁻³ L; V样: 反应体系中样本体积, 0.1mL; V样总: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 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A1或A2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

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号
免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779
Q Q: 807961520 731791866
邮箱: shsunbao@126.com
<http://www.saint-bio.com>