

葡萄糖脱氢酶（GCDH）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1196

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动物组织、细胞、细菌

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。本试剂盒提供了一种简单快速的 GCDH 活性检测方法，其原理是 GCDH 催化 D-葡萄糖和 NAD 生成 D-葡萄糖酸和 NADH，NADH 在 340nm 处有特征吸收峰，测定 340nm 吸光度增加速率可以计算 GCDH 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	9.5mL	19mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1瓶	粉剂×1瓶	-20℃保存

自备耗材

酶标仪或分光光度计（能测 340nm 处的吸光度）
96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
水浴锅、制冰机，低温离心机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

工作液的配制：临用前在试剂二中加入全部试剂一，混合溶解待用；用不完的试剂 4℃可保存一周；或分装后-20℃保存，避免反复冻融。

样本制备

动物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。
细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。对于脂肪含量较高的动物组织，离心后移除上层脂肪，再取上清液。

实验步骤

1. 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 340nm。分光光度计去离子水调零。
2. 工作液置于 37℃预热 10min。

产品说明书

3. 在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入 10 μ L 样本和 190 μ L 工作液，迅速混匀后于 340nm 检测，记录初始吸光值和 1min 后的吸光值，分别记为 A_1 和 A_2 ，计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。

注意：1. 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 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量；如果 ΔA 大于 0.3，可用提取液稀释样品，计算时结果乘以稀释倍数。

2. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在 37 $^{\circ}$ C。

3. 因通过反应速率计算酶活，使用 96 孔 UV 板时请根据操作速度控制一次测定的样本数（通常一次测定 4-8 个样本），不推荐同时测多个样本。

结果计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟生成 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 6431 \times \Delta A \div W$$

2. 按细胞密度计算：

单位的定义：每 1 万个细胞在反应体系中每分钟生成 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 12.86 \times \Delta A$$

3. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟生成 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 6431 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 mol/L/cm； d ：96 孔板光径，0.5cm； 10^9 ：1mol=1 $\times 10^9$ nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，1min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样品质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d :0.5cm 调整为 d :1cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1164 葡萄糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1179 山梨醇检测试剂盒（微量法）
- PMK1180 山梨醇脱氢酶（SH）检测试剂盒（微量法）
- PMK1197 总糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1176 糖原检测试剂盒（微量法）
- PMK1181 还原糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1174 血糖检测试剂盒（微量法）



更多产品详情了解，请关注公众号：