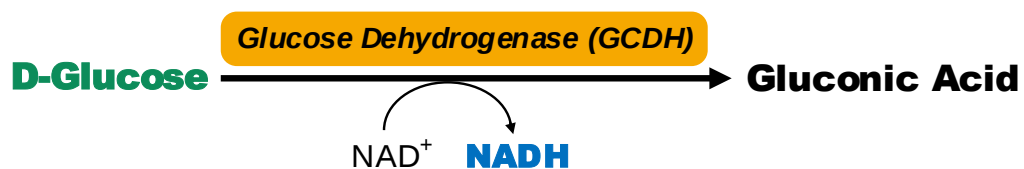




葡萄糖脱氢酶 (GCDH) 活性检测试剂盒

Glucose Dehydrogenase (GCDH) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



葡萄糖脱氢酶 (GCDH) 活性检测试剂盒

Glucose Dehydrogenase (GCDH) Activity Assay Kit

一、产品描述

葡萄糖脱氢酶是一种存在于微生物和高等动物肝脏中的氧化还原酶，能够催化 D-葡萄糖和 NAD(P) 生成 D-葡萄糖酸和 NAD(P)H，可作为 D-核糖合成途径的限速酶和制备高含量低聚果糖的关键酶，在临床诊断、生物传感器、食品及医药等领域具有广泛应用。

葡萄糖脱氢酶能够催化 D-葡萄糖生成 D-葡萄糖酸，并以 NAD 为辅基生成 NADH，NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征葡萄糖脱氢酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 7 mL 试剂一充分溶解 (配制后 4°C 可保存 1 个月)
试剂三	粉剂×2 瓶	-20°C 避光保存	使用前加入 5 mL 试剂一充分溶解 (分装后 -20°C 可保存 2 周，避免反复冻融)
检测工作液的制备 (现用现配): 根据使用量按试剂一: 试剂二: 试剂三=4:3:2 的体积比配制，充分混匀即为检测工作液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿 (光径 10 mm) /96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液) 处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品，冰浴超声破碎 (功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次)，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将检测工作液 37°C 预热 10 min。
- ③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
检测工作液	180	180

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37°C 准确反应 60 s，测定 70 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.葡萄糖脱氢酶（GCDH）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{3215.43 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{3215.43 \times \Delta A}{W}$$

- ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{3215.43 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

- ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 3215.43 \times \Delta A$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{1607.72 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{1607.72 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{1607.72 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GCDH (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 1607.72 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g，细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间：60 s=1 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol= 10^9 nmol。

四、注意事项

- ①样本提取后的粗酶液建议当天完成测定，且始终保持冰上放置，以免变性和失活；
- ②若 A1 测定或 A2 测定大于 1.0 时，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ③准确在 10 s 和 70 s 处完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组内反应时间一致；
- ④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures

