天净沙系列

CAT#: 7-C591-57-1

低温运输，-20℃保存

天净沙

D-甘油醛-3-磷酸含量测定试剂盒

D-Glyceraldehyde 3-Phosphate Acid Assay Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是用于检测 D-甘油醛-3-磷酸（D-Glyceraldehyde 3-Phosphate，GADP，CAS 591-57-1）含量的试剂盒。其原理是磷酸丙糖异构酶（TPI/TIM）催化 D-甘油醛-3-磷酸转化为二羟丙酮磷酸，甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH、GDH）催化二羟丙酮磷酸与 NADH 反应生成 L-甘油-1-磷酸盐和 NAD+。通过监测 NADH 在 340 nm 光吸收降低来测定 D-甘油醛-3-磷酸的含量。本产品有如下特点：

1. 操作简单快捷。
2. 即开即用，用户不用单独准备各种试剂。
3. 提供 D-甘油醛-3-磷酸阳性对照溶液，便于在遇到问题时分析原因。
4. 适用于检测人工合成的、或从各种材料中提取的 D-甘油醛-3-磷酸样本。
5. 检测下限是 15.6 μg/mL，检测的线性范围是 31.3 μg/mL 至 1 mg/mL。
6. 本产品足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 400 次 250 μL 体系的 96 孔板检测。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用塑料袋包装

成份	编号	规格	包装
GADP 含量测定反应液	7-C591-57-1r	120 mL	125 mL 本色瓶
NADH 干粉	CAS 606-68-8	100 T	1.5 mL 棕色管
GDH-TIM 酶混合液	7-C591-57-1e	100 T	1.5 mL 红盖管
1 mg/mL GADP 溶液	C591-57-1A	0.5 mL	1.5 mL 本色管
使用手册	7-C591-57-1sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存。有效期一年。

自备物品

超纯水、待测样本、样本缓冲液、紫外分光光度计、1 mL 比色皿

使用方法

一、首次使用本试剂盒时试剂的配制

1. 配制 GADP 底物辅酶混合液：取 90 mL GADP 含量测定反应液，将所有 NADH 干粉、GDH-TIM 酶混合液加入，颠倒摇晃充分溶解，得 GADP 底物辅酶混合液。没用完的此溶液需要-20℃保存。
2. 用自选方式制备待测样本，样本溶于水或样本缓冲液中，缓冲液 pH 值控制为 7.6。注意：由于本试剂盒测定的是 NADH，故样本中也不得有 NADH。

二、标准曲线梯度稀释液的制备

3. 下面以 6 个稀释度的标准曲线为例。
4. 标记 1-6 个 1.5 mL 离心管，每个管中加入 0.2 mL 超纯水。
5. 将 1 mg/mL GADP 溶液作为 1 号管样品。
6. 在 2 号管中加入 0.2 mL 的 1 mg/mL GADP 溶液，充分震荡 1 分钟，得 500 μg/mL GADP 溶液。放冰上待用。
7. 换枪头，在 3 号管中加入 0.2 mL 的 500 μg/mL GADP 溶液（上步稀释所得），充分震荡 1 分钟，得 250 μg/mL GADP 溶液。放冰上待用。
8. 重复上面的操作直到得到 1000、500、250、125、62.5、31.3 μg/mL 共 6 个稀释度的样品。放冰上待用。

三、用光径 1 cm 的比色皿测定光吸收

9. 如有 N 个待测样本，每个做 1 次重复，则反应数为 N+7，其中 N 个用于待测样本，1 个用于阴性对照，6 个用于标曲样本。如每个样本做重复，则反应数应相应地变动。以下按 1 个样做 1 次重复示例。
10. 按下表在各管中加入各成分。根据分光光度计一次可以同时测定的样本数决定每次加几个样本：

成分	N 个样本管	阴性对照	6 个标曲管
GADP 底物辅酶混合液	各 900 μL	不加	900 μL
GADP 含量测定反应液	不加	1 mL	不加
N 个待测样本	各 100 μL	不加	不加
第 8 步所得 6 个样	不加	不加	各 100 μL 分别到对应的管

11. 将样本混合后室温静置 10 分钟。然后使用分光光度计测定每个样本在 340 nm 的光吸收读数，测前用超纯水调零，共得 N+7 个读数。

四、数据处理

12. 计算真实 OD340 光吸收：每个样本测得的光吸收减去阴性对照的光吸收即为每个样本的光吸收。共 N+6 个读数。
13. 制备标准曲线：以 D-甘油醛-3-磷酸溶液的浓度为横轴，以其真实 OD340 光吸收为纵轴，绘制标准曲线。
14. 将 N 个待测样品的 OD340 值带入标准曲线方程，即可计算出每个待测样品中的 D-甘油醛-3-磷酸的浓度。

	五、多孔板酶标仪检测 15. 同上，只是所有反应体系按比例缩小使得终体积跟酶标用多孔板板兼容，最后在 340 nm 测定光吸收。
关联产品	乳酸脱氢酶活性测定试剂盒