

葡萄糖氧化酶 (GOD) 活性检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0181	葡萄糖氧化酶 (GOD) 活性检测试剂盒	100 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL × 1 瓶	4℃
缓冲液	液体 30mL × 1 瓶	4℃
试剂一	粉剂 × 1 瓶: 临用前加入 10mL 缓冲液充分溶解备用, 用不完的试剂 4℃ 保存一个月。	-20℃
试剂二	粉剂 × 1 瓶: 临用前加入 10mL 缓冲液充分溶解备用, 用不完的试剂 4℃ 保存一个月。	-20℃

一、产品说明

葡萄糖氧化酶 (GLucose oxidase, GOD) (EC 1.1.3.4) 广泛存在于动物、和植物中, 催化葡萄糖氧化生成葡萄糖酸, 并产生 H₂O₂, 是生物体中产生活性氧的代谢途径之一。

GOD 催化产生 H₂O₂, 过氧化物酶催化 H₂O₂ 氧化 4-氨基安替比林偶联酚, 生成有色化合物, 在 500 nm 有特征吸收峰, 颜色深浅与 GOD 活性成线性关系。

二、自备材料

可见分光光度计/酶标仪、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/酶标板、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品准备

- 1、组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞或细菌: 先收集细胞或细菌到离心管内, 离心后弃去上清; 按照细胞或细菌数量(10⁴ 个)加入 1mL 提取液 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液), 超声波破碎 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 8000g, 4℃ 离心 10min, 取上清待测。
- 3、血清或血浆: 直接测定。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 500nm, 蒸馏水调零。
- 2、按照说明配置试剂一和试剂二。
- 3、煮沸样本的准备: 取 200μL 样本至新的 EP 管中, 95℃ 水浴 10min, 冷却至室温后, 8000g 4℃ 离心 10min, 取上清作为对照管的煮沸样本待测。
- 4、测定操作表:

试剂名称 (μL)	对照管	测定管
样本		50
煮沸样本	50	
试剂一	75	75
试剂二	75	75
混匀, 35℃保温 15min 后, 于 500nm 波长处读取吸光度。ΔA=A 测定管-A 对照管。每个测定管需设一个对照管。		

五、含量的计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式如下:

回归方程为 $y = 1.4174x - 0.0169$; x 为 H₂O₂ 标准品浓度 (μmol/mL), y 为 ΔA。

1、按照样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (nmol/min/mg prot)} = (\Delta A + 0.0169) \div 1.4174 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times 1000 \div T$$

$$= 118 \times (\Delta A + 0.0169) \div \text{Cpr}$$

2、按照样本鲜重计算:

单位的定义: 每 g 组织每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (nmol/min/g 鲜重)} = (\Delta A + 0.0169) \div 1.4174 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times 1000 \div T$$

$$= 118 \times (\Delta A + 0.0169) \div W$$

3、按血清/血浆体积计算:

单位的定义: 每 mL 血清 (浆) 每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (nmol/min/mL)} = (\Delta A + 0.0169) \div 1.4174 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times 1000 \div T$$

$$= 118 \times (\Delta A + 0.0169)$$

4、按照细胞或细菌密度计算:

单位的定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (nmol/min/mL)} = (\Delta A + 0.0169) \div 1.4174 \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}}) \times 1000 \div T$$

$$= 0.235 \times (\Delta A + 0.0169)$$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.125mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.05mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 15 min; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, 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如下:

回归方程为 $y = 2.8348x - 0.0169$; x 为 H₂O₂ 标准品浓度 (μmol/mL), y 为 ΔA。

1、按照样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (nmol/min/mg prot)} = (\Delta A + 0.0169) \div 2.8348 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times 1000 \div T$$

$$= 58.8 \times (\Delta A + 0.0169) \div \text{Cpr}$$

2、按照样本鲜重计算:

单位的定义: 每 g 组织每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (nmol/min/g 鲜重)} = (\Delta A + 0.0169) \div 2.8348 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times 1000 \div T$$

$$= 58.8 \times (\Delta A + 0.0169) \div W$$

3、按血清/血浆体积计算:

单位的定义: 每 mL 血清 (浆) 每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$GOD (nmol/min/mL) = (\Delta A + 0.0169) \div 2.8348 \times V_{反总} \div V_{样} \div T \times 1000 = 58.8 \times (\Delta A + 0.0169)$ 。

4、按照细胞或细菌密度计算:

单位的定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1nmol H₂O₂ 定义为一个酶活力单位。

$GOD (nmol/min/10^4 ceLL) = (\Delta A + 0.0169) \div 2.8348 \times V_{反总} \div (500 \times V_{样} \div V_{样总}) \times 1000 \div T = 0.118 \times (\Delta A + 0.0169)$ 。

V 反总: 反应体系总体积, 0.125mL; V 样: 加入样本体积, 0.05mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 15 min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万