

葡萄糖氧化酶(GOD)活性检测试剂盒说明书

Glucose oxidase Assay Kit

微量法

货号: AK137

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液 ES20	液体 100mL×1 瓶	4℃保存;
AK137-A	液体 15mL×1 瓶	4℃保存;
AK137-B	液体 3mL×1 瓶	4℃保存;
AK137-C	液体 1mL×1 瓶	-20℃保存; 可分装保存, 避免反复冻融

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 葡萄糖氧化酶 (Glucose oxidase, GOD, GOx) (EC 1.1.3.4) 是一种存在于昆虫、真菌和细菌中的酶, 催化 D-葡萄糖氧化为 D-葡萄糖内酯。GOD 广泛应用于食品、饮料、化工、制药等行业。

原理: 葡萄糖氧化酶催化产生 H_2O_2 , 过氧化物酶在有氧存在时催化 H_2O_2 分解产生的氧又将邻联茴香胺氧化生成有色物质, 颜色深浅与葡萄糖氧化酶活性成线性关系。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、水浴锅、天平、烘箱、离心机、可调式移液枪、冰和蒸馏水。

样品准备:

1. 组织样品的制备:

组织处理: 按照组织质量 (g): 提取液 ES20 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 ES20), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2. 血清 (浆): 直接检测。

测定步骤:

- 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。
- 工作液的配制: 用前取 5ml AK136-A 和 1ml AK136-B 充分混匀, 现配现用;
- 测定前将工作液和 AK137-C 在 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 水浴 10min 以上。
- 在微量玻璃比色皿或 96 孔板中加入 174μL 工作液和 6μL AK137-C, 立即混匀并在 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 水浴 5min; 然后再加入 20μL 样本, 加样本的同时开始计时, 记录 500nm 下 20s 吸光值 A1 和 2 小时 20s 后的吸光值 A2, 并计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

GOD 活力单位的计算:

a. 用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下

1. 血清 (浆) GOD 活力的计算

单位定义: 每 mL 血清 (浆) 每小时催化产生 1 μmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$GOD (U/mL) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d)] \div V_{\text{样}} \div T = 0.667 \times \Delta A$$

2. 动物组织 GOD 活力的计算

(1) 按蛋白浓度计算

单位定义: 每 mg 组织蛋白每小时催化产生 1 μmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d)] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 0.667 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织每小时催化产生 1 μmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d)] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.667 \times \Delta A \div W$$

注： V 反总：反应体系总体积，0.2mL；ε：氧化型邻联茴香胺摩尔消光系数，7.5mL /μmol /cm；
d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.02 mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，2h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 血清（浆）GOD 活力的计算

单位定义：每mL 血清（浆）每小时催化产生1 μmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d)] \div V_{\text{样}} \div T = 1.33 \times \Delta A$$

2. 动物组织 GOD 活力的计算

(1) 按蛋白浓度计算

单位定义：每mg 组织蛋白每小时催化产生1 μmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d)] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 1.33 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义：每g 组织每小时催化产生1 μmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d)] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.33 \times \Delta A \div W$$

注： V 反总：反应体系总体积，0.2mL；ε：氧化型邻联茴香胺摩尔消光系数，7.5mL /μmol /cm；d：96 孔板光径，0.5cm；V 样：加入样本体积，0.02 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，2h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

注意事项：

1. 不同匀浆组织中 GOD 活力不一样，做正式实验之前请先进行预实验，若 A2-A1>1，则说明组织活力太高，必须用提取液稀释成适当浓度匀浆上清液，使 A2-A1<1；若出现 A1>A2 现象，请将样本用提取液稀释成适当浓度。

2. 最好两个人同时做此实验，一个人比色，一个人计时，以保证实验结果的准确性