



乙醇酸氧化酶活性检测试剂盒

GO Assay Kit

微量法

产品编号: AK512M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES512	100mL×1 瓶	4℃保存；
AK512-A	15mL×1 瓶	4℃保存；
AK512-B	粉剂×1 瓶	4℃避光保存；临用前加 5mL 双蒸水溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融；
AK512-C	2mL×1 支	4℃保存；

※ 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: 乙醇酸氧化酶 (glycollic oxidase, GO; EC1.1.3.1) 是植物光呼吸代谢中的关键酶，也是光下合成草酸的关键酶，它催化乙醇酸氧化生成乙醛酸，对研究光呼吸代谢过程及其调控具有重要意义。

原理: 乙醇酸氧化酶催化乙醇酸氧化生成乙醛酸，乙醛酸和盐酸苯肼反应生成乙醛酸苯腙，在 324nm 有特征吸收峰。

自备用品:

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板)、天平、低温离心机。

酶液提取:

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 ES512)，进行冰浴匀浆。12000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 324nm, 蒸馏水调零。
2. 在微量石英比色皿/96 孔板中依次加入：

试剂名称	测定管 (ul)
样本	10
AK512-A	130
AK512-B	40
AK512-C	20

充分混匀，立即于微量石英比色皿/96 孔板中测定 324nm 处 10s 和 190s 吸光值 A1 和 A2, $\Delta A = A2 - A1$

计算公式:

- a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义: 每毫克蛋白每分钟氧化 1nmol 乙醇酸所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{GO 活性 (U/mg prot)} = \Delta A / (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} / (V \text{ 样} \times C_{pr}) \div T = 392 \times \Delta A \div C_{pr}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义: 每克组织每分钟氧化 1 nmol 乙醇酸所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{GO 活性 (U/g 鲜重)} = \Delta A / (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} / (V \text{ 样} \times W \div V \text{ 样总}) \div T = 392 \times \Delta A \div W$$

注: ϵ : 乙醛酸苯腙毫摩尔消光系数: 17L/mmol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 反总: 反应总体积, 0.2mL; V 样: 反应中样本体积, 0.01mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W, 样本质量, g; T: 反应时间, 3min。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义: 每毫克蛋白每分钟氧化 1nmol 乙醇酸所需的酶量为一个酶活力单位。

$$GO \text{ 活性 } (\text{U}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \times Cpr) \div T = 784 \times \Delta A \div Cpr$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义: 每克组织每分钟氧化 1nmol 乙醇酸所需的酶量为一个酶活力单位。

$$GO \text{ 活性 } (\text{U}/\text{g 鲜重}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \times W \div V \text{ 样总}) \div T = 784 \times \Delta A \div W$$

注: ϵ : 乙醛酸苯腙毫摩尔消光系数: 17L/mmol/cm; d: 比色皿光径, 0.5cm; V 反总: 反应总体积, 0.2mL; V 样:

反应中样本体积, 0.01mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W, 样本质量, g;

T: 反应时间, 3min。