

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 20mL×1 瓶	4℃保存;
AK137-B	液体 4mL×1 瓶	4℃保存;
AK137-C	液体 1mL×1 瓶	4℃保存;
工作液的配制: 用前将 AK137-B 和 AK137-C 转移至 AK137-A 中, 充分混匀, 待用; 剩余试剂 4℃可保存一周;		

※ 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 H₂O₂, 过氧化物酶在有氧存在时催化 H₂O₂ 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:

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、水浴锅、天平、烘箱、玻璃管、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:

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. 工作液的配制: 用前将 AK137-B 和 AK137-C 转移至 AK137-A 中, 充分混匀, 待用; 剩余试剂 4℃可保存一周;
3. 测定前将工作液在 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 水浴 10min 以上。
4. 在微量石英比色皿或 96 孔板中加入 10μL 样本和 240μL 工作液, 立即混匀并计时, 记录 500nm 下 20s 吸光值 A1 和 1min 20s 后的吸光值 A2。计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

GOD 活力单位的计算:

a. 用微量石英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) 每分钟催化产生 1nmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (ol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 3333 \times \Delta A$$

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 组织蛋白每分钟催化产生 1nmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 3333 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化产生 1nmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3333 \times \Delta A \div W$$

注： V 反总：反应体系总体积， 2.5×10^{-4} L； ϵ ：氧化型邻联茴香胺摩尔消光系数， 7.5×10^3 L/mol/cm；
d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；
T：反应时间，1 min；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）每分钟催化产生 1nmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 6666 \times \Delta A$$

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 组织蛋白每分钟催化产生 1nmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 6666 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化产生 1nmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 6666 \times \Delta A \div W$$

注： V 反总：反应体系总体积， 2.5×10^{-4} L； ϵ ：氧化型邻联茴香胺摩尔消光系数， 7.5×10^3 L/mol/cm；
d：96 孔板光径，0.5cm；V 样：加入样本体积，0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；
T：反应时间，1 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。