



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

葡萄糖氧化酶(GOD)活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41843

规格: 100T/96S

保质期: 6个月

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	2-8℃保存;
试剂-A	液体15mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-B	液体3mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-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) (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 H_2O_2 , 是生物体中产生活性氧的代谢途径之一。

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:

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: 用前取 5ml 试剂-A 和 1ml 试剂-B 充分混匀, 现配现用;
3. 测定前将工作液和 试剂-C 在 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 水浴 10min 以上。
4. 在微量玻璃比色皿或 96 孔板中加入 174μL 工作液和 6μL 试剂-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 $\Delta A = A2 - A1$ 。

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 1μmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

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

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 1μmol 氧化型邻联茴香胺为一个酶活力单位。

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

(2) 按样本鲜重计算

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

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

(2) 按样本鲜重计算

单位定义: 每g 组织每小时催化产生1 μ mol 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 / μ mol /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。