



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

乙二醛酶I (Gly I) 活性测定试剂盒

紫外分光光度法

货号: R43837-48S

产品简介:

乙二醛酶系统是甲基乙二醛 (MG) 的主要清除途径, 乙二醛酶I(Gly I, EC4.4.1.5) 是一种组成乙二醛酶系统的胞质酶。

乙二醛酶I(Gly I) 通过催化甲基乙二醛(MG) 和还原型谷胱甘肽形成S-D- 乳酰谷胱甘肽(S-D-lactoylglutathione, SLG), SLG 在240nm 处有特征吸收峰, 通过检测240nm 值的增加速率, 进而计算出乙二醛酶I(Gly I) 酶活性的大小。

测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体×2支	4℃保存	临用前甩几下或离心使液体落入底部, 每支再加入1.1mL蒸馏水, 混匀备用。
试剂二	粉体×1支	4℃保存	临用前甩几下或离心使粉体落入底部, 再加入2.2mL蒸馏水, 混匀备用。
试剂三	液体40mL×1瓶	4℃保存	

所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿(光径1cm)、可调式移液器、研钵、蒸馏水。

乙二醛酶I(GlyI) 活性测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验 样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①组织样本:



称取0.1g 组织样本(水分充足可取0.2g), 先加入1mL 的提取液, 冰浴匀浆, 12000rpm, 4℃离心10min, 上清液待测。

【注】:若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取

②细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约500万细菌或细胞加入1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次);12000rpm, 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】:若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液 (mL) 为500~1000:1的比例进行提取。

2、上机检测:

①紫外分光光度计预热30min 以上, 调节波长至240nm, 蒸馏水调零。

②制备反应mix: 按照试剂一: 试剂二: 试剂三 =10:10:160的比例混合, 避光孵育10min, 两个小时内用完。

③ 在 1mL 石英比色皿(光径1cm) 中依次加入下列试剂:

试剂名称(μL)	测定管
反应mix	650
样本	70
混匀, 室温(25℃)下, 30s时于240nm处读取吸光值A1, 5min后再读取A2。△A=A2-A1。	

【注】: 1.若△A值在零附近徘徊, 可增加反应时间T (如增至10min后读取A2), 则改变后的 T 需代入公式计算。

2. 若起始值A1太大如超过2(如颜色较深的植物叶片, 一般色素较高, 则起始值相对会偏高), 可以对样本用蒸馏水进行稀释(如稀释3倍), 则稀释倍数D 需代入计算公式重新计算。

结果计算:

1、按样本蛋白浓度计算:



酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟生成1nmol 的 SLG 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GlyI}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_2] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T \times D \\ = 610.4 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times D$$

2、按样本鲜重计算:

酶活定义: 每克组织每分钟生成1nmol 的 SLG 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GlyI}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_2] - (W \times V_1 \div V) \div T \times D \\ = 610.4 \times \Delta A \div W \times D$$

3、按细胞数量计算:

酶活定义: 每10⁴个细胞每分钟生成1nmol 的 SLG 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GlyI}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{cell})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_2] \div (W \times V_1 \div V) \div T \times D \\ = 610.4 \times \Delta A \div 500 \times D$$

V1---加入样本体积, 0.07mL;

V--- 加入提取液体积, 1mL;

V2--- 反应体系总体积, 7.2×10⁻⁴ L;

d--- 光径, 1cm;

W--- 样本质量, g;

T---反应时间, 5min;

E---SLG 的摩尔消光系数, 3.37×10³L/mol/cm;

D--- 稀释倍数, 未稀释即为1;

500----细胞数量, 万;

Cpr--- 蛋白质浓度, mg/mL, 建议使用本公司的BCA 蛋白含量检测试剂盒。