

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0618

Size: 50T/48S

葡萄糖氧化酶 (GOD) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

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。

二、测定原理:

GOD 催化葡萄糖氧化产生 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。

三、需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 40mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二	液体 8mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂三	液体 1mL×2 支	-20°C 保存	融化后可分装保存

五、操作步骤：

● 样品测定的准备

1、组织处理：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆；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、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 500nm，蒸馏水调零。

2、GOD 工作液的配制：取 20mL 试剂一+3.5mL 试剂二混匀，调 pH 至5.1（现配现用）

3、加样表：

试剂名称（ μ L）	测定管
GOD 工作液	900
试剂三	30
混匀，37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴 5min	
样本	100

样品测定前将 GOD 工作液与试剂三放入 37℃水浴中保温，然后将上述试剂按顺序加入 1 mL 玻璃比色皿中，加样本的同时开始计时；在 500 nm 波长下记录 20 秒时的初始吸光度 A1 及1 分20 秒时的吸光度 A2。计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。

六、GOD 活力单位的计算

1、动物组织 GOD 活力的计算

● 按蛋白浓度计算

单位的定义：每mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1 μ mol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/mg prot)} = \Delta A \div d \div \epsilon \times V_{\text{反应}} \div (\text{cpr} \times V_{\text{样本}}) \div T = 1373 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

● 按样本鲜重计算

单位的定义：每g 组织在反应体系中每分钟催化产生 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/g 鲜重)} = \Delta A \div d \div \varepsilon \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 1373 \times \Delta A \div W$$

2、血清（浆）GOD 活力的计算

单位的定义：每mL 血清（浆）在反应体系中每分钟催化产生 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/mL)} = \Delta A \div d \div \varepsilon \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样本}} \div T = 1373 \times \Delta A$$

V 反总：反应总体积，1.03mL；V 样本：加入样本体积，0.1mL；V 提取，加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g；d：光径，1cm；ε：氧化型邻联茴香胺消光系数， $7.5 \times 10^{-3} \text{ mL} / \mu \text{ mol} / \text{ cm}$ ；T：反应时间，1min。

七、注意事项：

- 1、不同匀浆组织中 GOD 活力不一样，做正式试验之前请做 1-2 支预实验，若 $A_2 - A_1 > 1$ ，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 $A_2 - A_1 < 1$ ，以提高检测灵敏度。实验过程中若出现 $A_1 > A_2$ 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。
- 3、此试剂盒仅适用于动物组织和动物血清（浆）