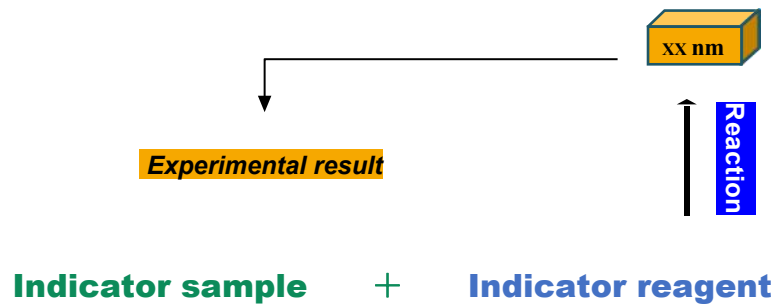


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

葡萄糖氧化酶 (glucose oxidase, GOD) 试剂盒说明书

微量法

正式测定前取2-3个预期差异较大的样本做预测定

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H₂O₂，是生物体中产生活性氧的代谢途径之一。

测定原理

GOD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。

试验中所需的仪器和设备

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵、冰、蒸馏水

试剂的组成和配制

| 种类 | 试剂规格 | 储存条件 | 使用方法及注意事项 |
|-----|---------------|------|-----------|
| 提取液 | 液体 100mL×1 瓶 | 4℃保存 | - |
| 试剂一 | 液体 19.2mL×1 瓶 | 4℃保存 | - |
| 试剂二 | 液体 4mL×1 瓶 | 4℃保存 | - |
| 试剂三 | 液体 1mL×1 支 | 4℃保存 | - |

样品测定的准备

组织处理：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提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

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、GOD 检测工作液的配制：用时将试剂二和试剂三转移至试剂一中，充分混匀，待用；用不完的试剂4℃可保存一周；
- 3、测定前将GOD检测工作液在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10 μL样本和240 μL工作液，立即混匀并计时，记录500nm下20s吸光值A1和1min20s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。

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

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。

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

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，1min；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。

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

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，0.01mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，1min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。