

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（GOD）检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

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℃保存	-
试剂一	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	液体 1mL×2 支	-20℃保存	融化后可分装保存

产品说明：

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。

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。

试验中所需的仪器和设备：

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

操作步骤：

一、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。

二、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°C 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 $\Delta A = A2 - A1$ 。

三、GOD 活力单位的计算

1、动物组织 GOD 活力的计算

a. 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 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

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

b. 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。

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

$\Delta A \div W$

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。

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

V 反应：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。

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 $A2 - A1 > 1$ ，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 $A2 - A1 < 1$ ，以提高检测灵敏度。实验过程中若出现 $A1 > A2$ 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。
- 3、此试剂盒仅适用于动物组织和动物血清（浆）。