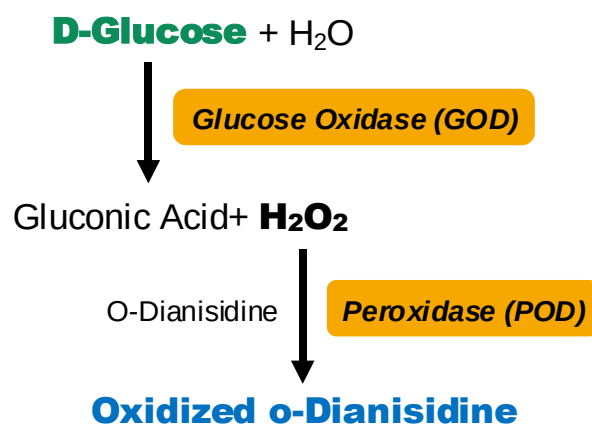




葡萄糖氧化酶（GOD）活性检测试剂盒
Glucose Oxidase (GOD) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



葡萄糖氧化酶（GOD）活性检测试剂盒

Glucose Oxidase (GOD) Activity Assay Kit

一、产品描述

葡萄糖氧化酶（GOD）是能够在有氧气条件下专一性催化 β -D-葡萄糖生成葡萄糖酸和 H_2O_2 的脱氢酶，广泛存在于动物和植物中，是生物体中产生活性氧的代谢途径之一。葡萄糖氧化酶具有催化专一性、高活性和高效性等优点，在食品工业、医药、饲料添加等领域具有广泛应用。

葡萄糖氧化酶能够催化葡萄糖产生 H_2O_2 ，过氧化物酶进一步催化 H_2O_2 氧化邻联茴香胺生成有色物质，产物在 500 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征葡萄糖氧化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂二	液体 4 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体 1 mL×1 支	-20°C 避光保存	建议分装后 -20°C 保存，避免反复冻融 (根据使用量取用，使用前应恢复至室温)
GOD 工作液的制备（现用现配）：根据使用量按照试剂一：试剂二=5:1 的体积比配制，充分混匀即为 GOD 工作液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接测定或适当稀释后再进行测定。

2. 测定步骤

- ①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 500 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将**试剂三**和 **GOD 工作液**置于 35℃预热 10 min 以上，使用过程中置于 35℃保温放置。
- ③在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	20
GOD 工作液	174
试剂三	6

- 吸光值测定：**①充分混匀并立即开始计时，测定 20 s（总时间）时 500 nm 处吸光值，记为 A1；
②35℃恒温准确反应 120 s，测定 140 s（总时间）时 500 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

3. 葡萄糖氧化酶（GOD）活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1.333 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1.333 \times \Delta A}{W}$$

- ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10⁴ 个细菌或细胞每分钟生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1.333 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

- ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 1.333 \times \Delta A$$

3.2 使用微量比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.667 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.667 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{\epsilon \times d_2 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.667 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 μmol 氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 0.667 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 反总：反应体系总体积，0.2 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL； ϵ ：氧化型邻联茴香胺消光系数，7.5 mL/ $\mu\text{mol}/\text{cm}$ ； d_1 ：96 孔板光径，0.5 cm； d_2 ：微量玻璃比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，120 s=2 min。

四、注意事项

①若 A_{2} >0.5 建议将粗酶液使用适当稀释后再进行测定，若 A_{2} <0.05 建议适当增加样本量重新提取后再进行测定，计算时相应修改；

②准确在 20 s 和 140 s 处完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔板测定，应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

