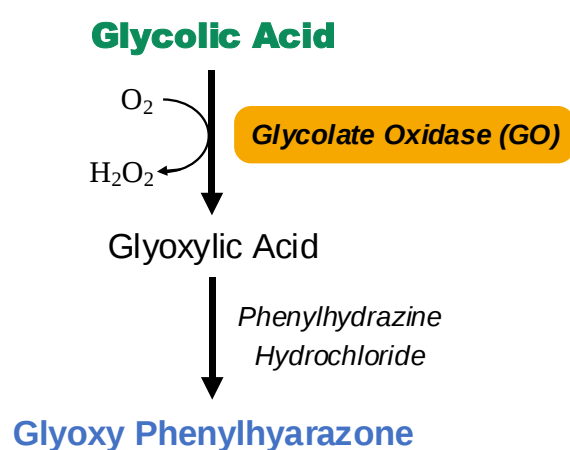




乙醇酸氧化酶（GO）活性检测试剂盒
Glycolate Oxidase (GO) Activity Assay Kit



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



乙醇酸氧化酶（GO）活性检测试剂盒

Glycolate Oxidase (GO) Activity Assay Kit

一、产品描述

乙醇酸氧化酶（Glycolate Oxidase）是植物光呼吸过程中的关键酶，定位于细胞内过氧化物酶体中参与乙醇酸循环，能够催化乙醇酸氧化生成乙醛酸和草酸，乙醇酸氧化酶与植物光呼吸、生长发育、矿质营养及感病等密切相关，其活性测定对于植物光合和呼吸代谢的研究具有重要意义。

乙醇酸氧化酶催化乙醇酸氧化生成乙醛酸，乙醛酸能够与盐酸苯肼反应生成乙醛酸苯腙，产物在 324 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可表征乙醇酸氧化酶的活性。

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 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	-20°C避光保存	使用前每瓶加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C保存，避免反复冻融)
试剂三	液体 3 mL×1 瓶	4°C避光保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 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 12000 rpm 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 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 12000 rpm 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

（注：若样本中色素含量较高，建议在粗酶液制备过程中使用活性炭脱色后再进行活性测定）

2. 测定步骤

- ① 紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 324 nm，蒸馏水调零。
- ② 试验前将试剂一 25℃ 预热 15 min。
- ③ 在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
试剂一	130	130
粗酶液	10	-
蒸馏水	-	10
试剂二	40	40
试剂三	20	20

吸光值测定：①充分混匀并开始计时，测定 10 s（总时间）时 324 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②测定 190 s（总时间）时 324 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 ΔA 测定 = A2 测定 - A1 测定， ΔA 空白 = A2 空白 - A1 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定 - ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3. 乙醇酸氧化酶（GO）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 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 nmol 乙醛酸苯腙所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$GO \text{ (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{784.31 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

② 按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 乙醛酸苯腙所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$GO \text{ (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{784.31 \times \Delta A}{W}$$

③ 按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细胞每分钟生成 1 nmol 乙醛酸苯腙所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$GO \text{ (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{784.31 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

3.2 使用微量石英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 nmol 乙醛酸苯腙所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$GO \text{ (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{392.16 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 乙醛酸苯腙所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$GO \text{ (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{392.16 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细胞每分钟生成 1 nmol 乙醛酸苯腙所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$GO \text{ (U/}10^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{392.16 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，10 μL =0.01 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.2 mL= 2×10^{-4} L； ϵ ：乙醛酸苯腙摩尔消光系数： 1.7×10^4 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：1 mL 石英比色皿光径，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，180 s=3 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol= 10^9 nmol。

四、注意事项

①若 A1 测定大于 0.9（微量石英比色皿）或 0.5（96 孔 UV 板），建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再测定，计算时相应修改；

②反应体系中底物易发生自氧化，设置空白组作为试剂质量检测孔，正常情况下 ΔA 空白应小于 0.02，试验前可测定空白组以确定底物状态；

③准确在 10 s 和 130 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性；若使用 96 孔 UV 板应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

④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.

