

Glucose Oxidase Activity Assay Kit

葡萄糖氧化酶（GOD）活性测定试剂盒说明书

货号:BN72426 | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

葡萄糖氧化酶（GOD，EC 1.1.3.4）是一种常见于多种微生物中的氧化还原酶，葡萄糖氧化酶催化葡萄糖和氧反应生成葡萄糖酸和过氧化氢，过氧化氢和特异显色剂反应产生（粉）红色产物，该产物在510nm有最大吸收峰，进而得到葡萄糖氧化酶酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉体 mg×2 支	4℃保存	用前甩几下使粉体落入底部，每支加 1.2mL 的蒸馏水溶解备用。
标准管	液体 mL×1 支	4℃保存	

三、所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、天平、移液器、研钵、离心机。

四、葡萄糖氧化酶（GOD）活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备:

① 组织样本:

0.1g 组织样本（水分充足的样本建议取 0.2g 左右），加 1mL 的提取液冰浴匀浆，粗提液全部转移到 EP 管中，12000rpm，4℃离心 10min，上清液待测。

② 细胞/细菌样本:

先收集细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细胞/细菌加入 1mL 的提取液，超声波破碎细胞/细菌（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细胞数量（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min，设定波长到 510nm，蒸馏水调零。

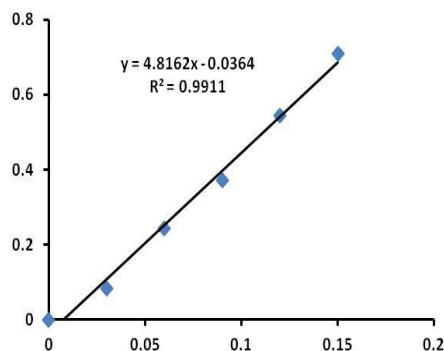
② 所有室温至室温（25℃）。在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
试剂一	300
试剂二	300
样本	60
混匀，37℃孵育 5min	
试剂三	40
混匀，于 510nm 下读取吸光值 A1，37℃孵育 20min 后读取吸光值 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 4.8162x - 0.0364$ ：x 为 H_2O_2 标准品(μmol)，y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本鲜重计算：

单位定义：在 37°C ，每克组织每小时生成 $1\mu\text{molH}_2\text{O}_2$ 定义为一个酶活单位 (U)。

$$\text{GOD } (\mu\text{mol/h/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0364) \div 4.8162] \div (W \times V1 \div V) \div T = 10.4 \times (\Delta A + 0.0364) \div W$$

3、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：在 37°C ，每毫克组织蛋白每小时生成 $1\mu\text{molH}_2\text{O}_2$ 定义为一个酶活单位 (U)。

$$\text{GOD } (\mu\text{mol/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0364) \div 4.8162] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 10.4 \times (\Delta A + 0.0364) \div \text{Cpr}$$

4、按细胞/细菌数量计算：

单位定义：在 37°C ，每 10^4 个细胞/细菌每小时生成 $1\mu\text{molH}_2\text{O}_2$ 定义为一个酶活单位 (U)。

$$\text{GOD } (\mu\text{mol/h}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0364) \div 4.8162] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.021 \times (\Delta A + 0.0364)$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.06mL；

T---反应时间，20min=1/3h；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。