葡萄糖氧化酶（GOD）活性测定试剂盒说明书

（货号：ADS-W-GOD001　微板法 96 样　有效期：3 个月）

一、指标介绍：

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：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂三	粉体 2 支	4℃保存	1. 开盖前注意使粉体落入底部（可手动甩一甩）； 2. 每支加 1.2mL 的蒸馏水溶解备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
标准管	液体 1 支	4℃保存	

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、葡萄糖氧化酶（GOD）活性测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

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 提取液研磨，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（10^4）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、检测步骤：

① 酶标仪预热 30min，设定波长到 510nm。

② 所有室温至室温（25℃）。在 96 孔板中依次加入：

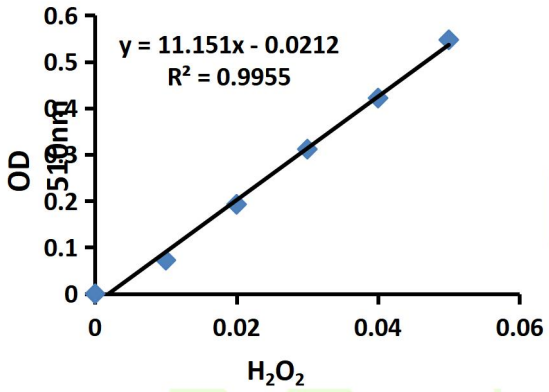
试剂组分（μL）	测定管
试剂一	60
试剂二	100
样本	20
混匀，37℃孵育 5min	
试剂三	20

混匀，于 510nm 下读取吸光值 A1，37℃孵育 20min 后读取吸光值 A2，△A =A2-A1。

【注】：若△A 值在零附近，则增加样本加样体积 V1（如增至 50μL，则试剂一相应减少），或延长反应时间 T（如延长至 40min 或 60min），则改变后的 V1 和 T 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线：y = 11.151x - 0.0212：x 为 H_2O_2 标准品(μmoL)，y 为ΔA。



2、按样本鲜重计算：

单位定义：在 37℃，每克组织每小时生成 1μmoLH_2O_2 定义为一个酶活单位（U）。

GOD (μmoL/h/g 鲜重)=[(ΔA+0.0212)÷11.151]÷(W×V1÷V)÷T =13.45×(ΔA+0.0212)÷W

3、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：在 37℃，每毫克组织蛋白每小时生成 1μmoLH_2O_2 定义为一个酶活单位（U）。

GOD (μmoL/h/mg prot)=[(ΔA+0.0212)÷11.151]÷(V1×Cpr) ÷T=13.45×(ΔA+0.0212)÷Cpr

4、按细胞/细菌数量计算：

单位定义：在 37℃，每 10^4 个细胞/细菌每小时生成 1μmoLH_2O_2 定义为一个酶活单位（U）。

GOD (μmoL/h/10^4 cell)=[(ΔA+0.0212)÷11.151]÷(500×V1÷V)÷T=0.027×(ΔA+0.0212)

V---加入提取液体积，1 mL；　　V1---加入样本体积，0.02mL；

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。

附：标准曲线制作过程：

1　制备标准品母液（250μmol/mL）。

2　把母液稀释成以下浓度：0，0.5，1，1.5，2，2.5μmol/mL。也可根据实际调整浓度。

3　在 96 孔板中直接加入：20μL 标准品+80μL 试剂一+100μL 试剂二，混匀于 510nm 处读值，依据结果即可制作标准曲线。