

葡萄糖氧化酶（GOD）活性测定试剂盒说明书

（货号：ADS-F-GOD001 分光法 48 样 有效期：3 个月）

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°C保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4°C避光保存	
试剂三	粉体 2 支	4°C保存	每支： 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°C保存	

三、所需仪器和用品：

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）、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

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°C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°C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、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°C）。在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

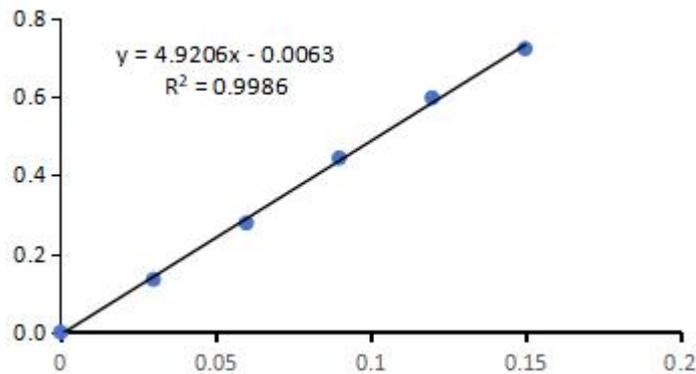
试剂名称（ μ L）	测定管
试剂一	300
试剂二	300
样本	60

混匀, 37°C 孵育 5min	
试剂三	40
混匀, 于 510nm 下读取吸光值 A1, 37°C 孵育 20min 后读取吸光值 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】：若 ΔA 值在零附近, 则增加样本加样体积 V1 (如增至 50 μ L, 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: $y = 4.9206x - 0.0063$: x 为 H₂O₂ 标准品(μ mol), y 为 ΔA 。



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 μ molH₂O₂ 定义为一个酶活单位 (U)。
 $GOD (\mu\text{mol/h/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0063) \div 4.9206] \div (W \times V1 \div V) \div T = 10.2 \times (\Delta A + 0.0063) \div W$

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 μ molH₂O₂ 定义为一个酶活单位 (U)。
 $GOD (\mu\text{mol/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0063) \div 4.9206] \div (V1 \times Cpr) \div T = 10.2 \times (\Delta A + 0.0063) \div Cpr$

4、按细胞/细菌数量计算:

单位定义: 在 37°C, 每 10⁴ 个细胞/细菌每小时生成 1 μ molH₂O₂ 定义为一个酶活单位 (U)。
 $GOD (\mu\text{mol/h}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0063) \div 4.9206] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.02 \times (\Delta A + 0.0063)$

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。

附: 标准曲线制作过程:

- 标准品母液浓度为 250 μ mol/mL。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品, 例如: 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 μ mol/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。
- 标品稀释参照表如下:

1. 吸取标准品母液 100 μ L, 加入 900 μ L 蒸馏水, 混匀得到 25 μ mol/mL 的标品稀释液;						
2. 吸取 25 μ mol/mL 的标品稀释液 100 μ L, 加入 900 μ L 蒸馏水, 混匀得到 2.5 μ mol/mL 的标品稀释液待用。						
标品浓度 μ mol/mL	0	0.5	1	1.5	2	2.5

标品稀释液 uL	0	40	80	120	160	200
水 uL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

3 依据加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	60	
蒸馏水		60
试剂一	340	340
试剂二	300	300
混匀于 510nm 处读值， $\Delta A = A$ 测定-0 浓度管。		