

葡萄糖氧化酶（GOD）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0695

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 110 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 1 mL×1 支	-20℃保存

溶液的配制：

- 1、工作液的配制：取 15 mL 试剂一和 3 mL 试剂二混匀（现配现用）；
- 2、试剂三：融化后可分装-20℃保存。

产品说明：

GOD（EC 1.1.3.4）广泛存在于动物和植物中，催化葡萄糖氧化生成葡萄糖酸，并产生 H_2O_2 ，是生物体中产生活性氧的代谢途径之一。

GOD催化葡萄糖产生 H_2O_2 ，过氧化物酶在有氧存在时催化 H_2O_2 分解产生的氧又将邻联茴香胺氧化生成有色物质，颜色深浅与葡萄糖氧化酶活性成线性关系。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

（1）组织处理：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

（2）细菌、细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清，按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎（功率 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）。8000g 4℃离心 10 分钟，取上清，置冰上待测。

（3）血清（浆）：直接检测。

二、测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至500nm，蒸馏水调零。

2、加样表：





试剂名称 (μL)	测定管
GOD工作液	174
试剂三	6
混匀, 37°C水浴5min	
样本	20

样本测定前将 GOD 工作液与试剂三放入 37°C水浴中保温, 然后将上述试剂按顺序加入微量比色皿/96 孔板中, 加样本的同时开始计时; 在 500nm 波长下记录 20 秒时的初始吸光度 A1 及 2 小时 20 秒时的吸光度 A2。计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

三、GOD 活力单位的计算

a. 用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

单位的定义: 每mg组织蛋白在反应体系中每小时催化产生1μmol氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.667 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算

单位的定义: 每g组织在反应体系中每小时催化产生1μmol氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD活性 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.667 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细菌或细胞数量计算

单位的定义: 每1万细菌或细胞在反应体系中每小时催化产生1μmol氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 1.333 \times 10^{-3} \times \Delta A \div W$$

(4) 按血清(浆)体积计算

单位的定义: 每mL血清(浆)在反应体系中每小时催化产生1μmol氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD活性 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 0.667 \times \Delta A$$

V反总: 反应总体积, 0.2mL; V样: 加入样本体积, 0.02mL; V提取: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞数量, 500万; d: 光径, 1cm; ε: 氧化型邻联茴香胺消光系数, 7.5mL/μmol/cm; T: 反应时间, 2h。

b. 用96孔板测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算:

单位的定义: 每mg组织蛋白在反应体系中每小时催化产生1μmol氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 1.111 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算:

单位的定义: 每g组织在反应体系中每小时催化产生1μmol氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD活性 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 1.111 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细菌或细胞数量计算

单位的定义: 每1万细菌或细胞在反应体系中每小时催化产生1μmol氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。



$$\text{GOD活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样}}) \div T = 2.222 \times 10^{-3} \times \Delta A$$

(4) 按血清（浆）体积计算

单位的定义：每mL血清（浆）在反应体系中每小时催化产生1μmol氧化型邻联茴香胺定义为一个酶活力单位。

$$\text{GOD活性 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div T \div V_{\text{样}} = 1.111 \times \Delta A$$

V反总：反应总体积，0.2mL；V样：加入样本体积，0.02mL；V提取：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞数量，500万；d：光径，0.6cm；ε：氧化型邻联茴香胺消光系数，7.5 mL/μmol/cm；T：反应时间，2h。

注意事项：

- 1、不同匀浆组织中 GOD 活力不一样，做正式试验之前请做 1-2 次预试验，若 A2-A1>0.8，则说明组织活力太高，必须用提取液稀释成适当浓度匀浆上清液，使 A2-A1<0.8，以提高检测灵敏度。实验过程中若出现 A1>A2 现象请将样本用提取液稀释成适当浓度。
- 2、最好两个人同时做此实验，一个人比色，一个人计时，以保证实验结果的准确性。

相关发表文献：

[1] Lv C, Yang X, Wang Z, Ying M, Han Q, Li S. Enhanced Performance of Bioelectrodes Made with Amination-Modified Glucose Oxidase Immobilized on Carboxyl-Functionalized Ordered Mesoporous Carbon. *Nanomaterials (Basel)*. 2021 Nov 16;11(11):3086. doi: 10.3390/nano11113086. PMID: 34835850; PMCID: PMC8617758.

[2] Pan Y, Zhu Y, Xu C, Pan C, Shi Y, Zou J, Li Y, Hu X, Zhou B, Zhao C, Gao Q, Zhang J, Wu A, Chen X, Li J. Biomimetic Yolk-Shell Nanocatalysts for Activatable Dual-Modal-Image-Guided Triple-Augmented Chemodynamic Therapy of Cancer. *ACS Nano*. 2022 Nov 22;16(11):19038-19052. doi: 10.1021/acsnano.2c08077. Epub 2022 Oct 31. PMID: 36315056.

[3] Li Y, Su L, Zhang Y, Liu Y, Huang F, Ren Y, An Y, Shi L, van der Mei HC, Busscher HJ. A Guanosine-Quadruplex Hydrogel as Cascade Reaction Container Consuming Endogenous Glucose for Infected Wound Treatment-A Study in Diabetic Mice. *Adv Sci (Weinh)*. 2022 Mar;9(7):e2103485. doi: 10.1002/advs.202103485. Epub 2022 Jan 22. PMID: 35064773; PMCID: PMC8895150.

[4] Yu Y, Lin R, Yu H, Liu M, Xing E, Wang W, Zhang F, Zhao D, Li X. Versatile synthesis of metal-compound based mesoporous Janus nanoparticles. *Nat Commun*. 2023 Jul 17;14(1):4249. doi: 10.1038/s41467-023-40017-2. PMID: 37460612; PMCID: PMC10352278.

[5] Chen J, Wang X, Yuan Y, Chen H, Zhang L, Xiao H, Chen J, Zhao Y, Chang J, Guo W, Liang XJ. Exploiting the acquired vulnerability of cisplatin-resistant tumors with a hypoxia-amplifying DNA repair-inhibiting (HYDRI) nanomedicine. *Sci Adv*. 2021 Mar 26;7(13):eabc5267. doi: 10.1126/sciadv.abc5267. PMID: 33771859; PMCID: PMC7997498.

参考文献：

[1] Han K, Wu Z, Lee J, et al. Activity of glucose oxidase entrapped in mesoporous gels[J]. *Biochemical engineering journal*, 2005, 22(2): 161-166.





相关系列产品:

BC3590/BC3595	过氧化氢 (H ₂ O ₂) 含量检测试剂盒
BC1090/BC1095	黄嘌呤氧化酶 (XOD) 活性检测试剂盒
BC1280/BC1285	二胺氧化酶 (DAO) 活性检测试剂盒

