

CheKine™ 葡萄糖氧化酶活性 (GOD) 检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1310

规格: 96 T/96 S 480 T/480 S

批号: 见产品标签

	检测范围: 1-40 μ M		灵敏度: 1 μ M
	适用样本: 血清 (浆)、动物组织、细胞、细菌、尿液等液体样本		
	保质期: -20℃, 避光保存 12 个月		

注意: 这里的检测范围和灵敏度是指标准品的检测范围和灵敏度, 需要根据样本情况折算为样本 GOD 活性的检测范围和灵敏度。

01 背景与原理

葡萄糖氧化酶 (Glucose Oxidase, GOD) (EC 1.1.3.4) 是一种二聚酶, 催化 β -D-葡萄糖氧化成过氧化氢和水解成葡萄糖酸的 D-葡萄糖-1,5-内酯。这种酶是由某些种类的昆虫、真菌和细菌产生的。葡萄糖氧化酶广泛用于测定体液中的葡萄糖, 以及从饮料、食品和其他农产品中去除残留的葡萄糖和氧气。此外, 葡萄糖氧化酶通常用于生物传感器来检测葡萄糖。

本试剂盒检测原理是 GOD 催化葡萄糖产生 H_2O_2 , H_2O_2 在酸性条件下与指示剂反应产生一种紫色产物, 580 nm 处的吸光度与生成 H_2O_2 的浓度成正比, 也就是与 GOD 活性成正比。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	96 T	480 T	
Assay Buffer (20 $\times$)	10 mL	50 mL	4℃
Glucose (0.2 M)	7 mL	35 mL	-20℃
H ₂ O ₂ Standard (0.88 M)	100 μ L	100 μ L	-20℃, 避光保存
Chromogen	5.6 mL	28 mL	-20℃, 避光保存
Glucose Oxidase (Control)	100 μ L	100 μ L	-20℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 580 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水/PBS	试剂配置用/样本清洗用
其他	匀浆器（组织样本）、低温离心机、恒温箱、制冰机、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
1×Assay Buffer	使用前平衡到室温；用去离子水 1:20 稀释 Assay Buffer (20×)得到 1×Assay Buffer	1×Assay Buffer 可用来稀释 H ₂ O ₂ 标准品和样本，未用完的试剂可在 4℃保存至少两个月
Glucose (0.2 M)	即用型；使用前平衡到室温	建议分装后-20℃保存
H ₂ O ₂ Standard (0.88 M)	即用型	整个实验过程中避光放置；建议分装后-20℃避光保存
Chromogen	即用型	整个实验过程中避光放置；建议分装后-20℃避光保存； Chromogen 有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Working Glucose Oxidase (Control)	提供的葡萄糖氧化酶来自黑曲霉，作为阳性对照；取 2 μL Glucose Oxidase (Control)，先用 998 μL 1×Assay Buffer 作为第一步稀释。混匀后，再取 1 μL 第一步稀释的溶液，用 399 μL 1×Assay Buffer 稀释得到 Working Glucose Oxidase (Control)	整个实验过程中，冰上避光放置；未稀释的试剂建议分装后-20℃避光保存

05-1-2 标准品配制

配制 10 mM H₂O₂ Standard: 10 μL 0.88 M 的 H₂O₂ Standard 用 870 μL 的 1×Assay Buffer 稀释。配制 40 μM H₂O₂ Standard: 4 μL 10 mM 的 H₂O₂ Standard 用 996 μL 的 1×Assay Buffer 稀释。使用 40 μM H₂O₂ Standard, 按照下表所示, 进一步稀释标准品: 每次实验都要做一次标准品检测, 制作标曲; 稀释后的标准品溶液不稳定, 必须在 4 小时内使用。

序号	Volume of 40 μM Standard (μL)	1×Assay Buffer (μL)	浓度 (μM)
1	200	0	40
2	150	50	30
3	100	100	20
4	50	150	10
5	25	175	5
6	10	190	2
7	5	195	1
空白	0	200	0

05-2 样本制备

注意: 样本以新鲜为宜, 若不能立刻检测, 应储存在-80℃保存 1 个月。

- 动物组织: 用冷的 PBS 清洗组织, 尽可能去除血液。吸干组织上的水分, 称取约 0.1 g 样本, 加入预冷的 1×Assay Buffer 匀浆。4℃, 12000 g 离心 5 min, 取上清液置于冰上做进一步分析。
- 细胞或细菌: 收集 5×10⁶ 个细胞, 用预冷的 PBS 清洗细胞, 800 g 离心 2 min, 弃上清。用 1 mL 预冷的 1×Assay Buffer 冰浴超声波破碎细胞 5 min (功率 20%或 200 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 重复 30 次)。4℃, 12000 g 离心 5 min, 取上清液置于冰上做进一步分析。
- 血清(浆)等液体样本: 可直接检测。为确保检测值在标准值范围内, 建议将样本用 1×Assay Buffer 稀释成不同的浓度后, 再进行检测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备: 预热 30 min 以上, 调节波长到 580 nm。
2. 检测体系配制: 在 1.5 mL EP 管中按照如下式方操作:

试剂	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)	对照管 (μL)
1×Assay Buffer	50	0	0	0
Standard	0	50	0	0
样本	0	0	50	0
Working Glucose Oxidase (Control)	0	0	0	50
Glucose (0.2 M)	50	50	50	50

3. 吸光度检测: 混匀。37℃孵育 20 min, 吸取 60 μL 上述混合液到 96 孔板, 每孔迅速加入 40 μL Chromogen (建议使用多通道移液器)。轻敲板, 充分混合后, 37℃避光孵育 10 min, 读取 580 nm 处的吸光值 A, 分别记为 A_{空白}、A_{对照}、A_{标准} 和 A_{测定}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测}}$ 代入方程得到 y 值 (μM) ($1 \mu\text{M} = 1 \text{ nmol/mL}$)。

样本 GOD 计算

- 按样本蛋白浓度计算

活性单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 的 H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

$\text{GOD}(\text{U/mg prot}) = y \div \text{Cpr} \div T = 0.05 \times y \div \text{Cpr}$

- 按样本鲜重计算：

活性单位的定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 的 H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

$\text{GOD}(\text{U/g}) = y \div W \div T = 0.05 \times y \div W$

- 按照细胞或细菌数量计算

活性单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 的 H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

$\text{GOD}(\text{U}/10^4) = y \div N \div T = 0.05 \times y \div N$

- 按样本体积计算：

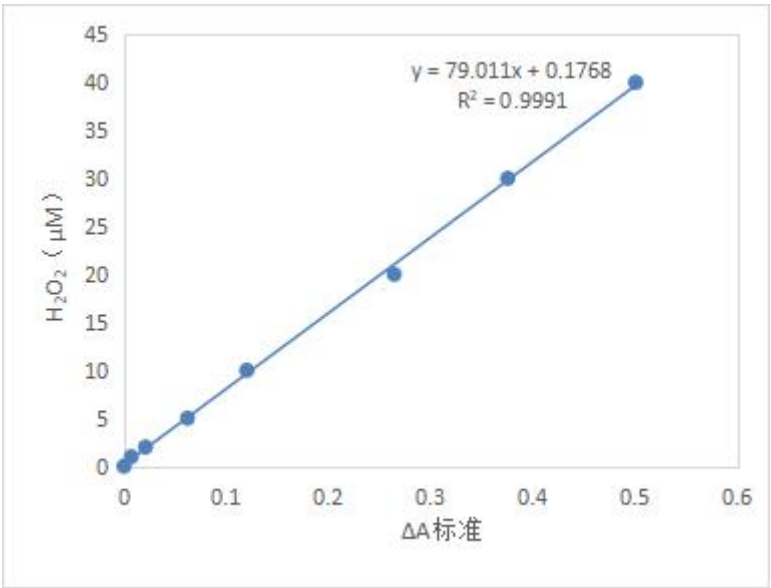
活性单位的定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol 的 H_2O_2 定义为一个酶活力单位。

$\text{GOD}(\text{U/mL}) = y \div V_{\text{样}} \div T = y$

W: 样品质量, g; T: 反应时间, 20 min; N: 细胞数量, 以 10^4 为单位 (例如细胞数量为 5×10^6 , $N=500$) ; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.05 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL。

07 结果展示

典型标准曲线： $y=60.927x-0.4644$ ， $R^2=0.9982$



示例-1: 取 0.1 g 小鼠肝脏, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板进行检测。测得: $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.221 - 0.047 = 0.174$, 代入标准曲线, 计算 $y = 10.137$ 。按样本质量计算得: $GOD(U/g) = 0.05 \times y \div W = 5.069 U/g$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？
如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 高于 0.5, 请进一步稀释样本, 再重新进行测定。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 低于 0.005, 可适当增加样本量。

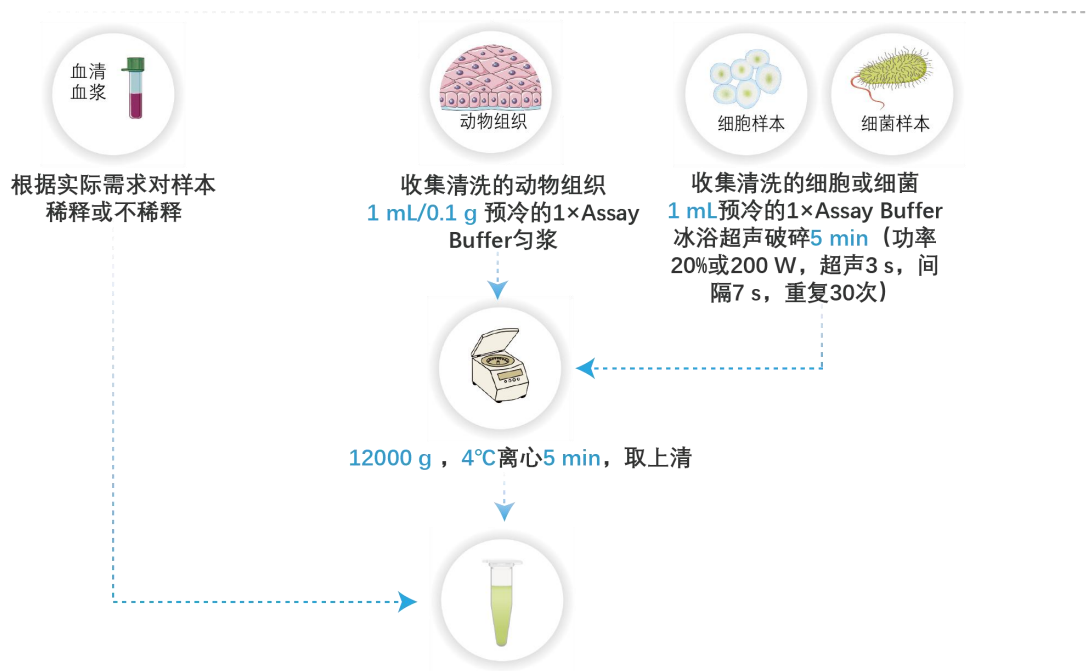
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1150	CheKine™ 过氧化物酶 (POD) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1030	CheKine™ 超氧化物歧化酶 (SOD) 活力检测试剂盒 (微量法)
KTB1041	CheKine™ 过氧化氢 (H ₂ O ₂) 含量检测试剂盒 (微量法)
KTB1210	CheKine™ 超氧阴离子含量检测试剂盒 (微量法)
KTB1220	CheKine™ 二胺氧化酶 (DAO) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1200	CheKine™ 蛋白质羰基含量检测试剂盒 (微量法)

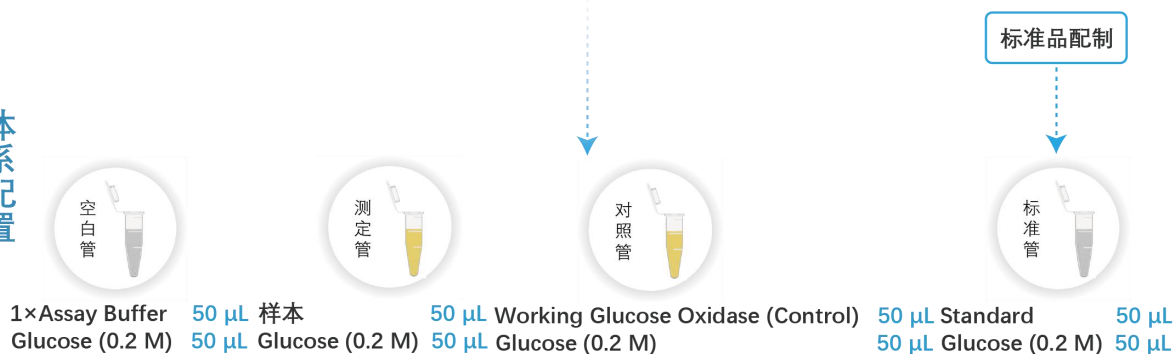
CheKine™ 葡萄糖氧化酶活性 (GOD) 检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB1310)

样本处理



体系配置



数据检测

混匀，37°C孵育20 min，吸取60 μL上述混合液到96孔板，每孔迅速加入40 μL Chromogen（建议使用多通道移液器）。轻敲板，充分混合后，37°C避光孵育10 min

