

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ170

产品规格：48T(32 samples) /96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(540-560 nm)

Elabscience®葡萄糖氧化酶(GOD)比色法测试盒

Glucose Oxidase (GOD) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测样本中葡萄糖氧化酶(GOD)的活力。

检测原理

葡萄糖氧化酶是食品工业中一种重要的工业用酶，广泛用于葡萄酒、啤酒、果汁、奶粉等食品脱氧、面粉改良、防止食品褐变等方面，在食品快速检测及生物传感器上也有广泛应用。微生物生长繁殖快、来源广，是生产 GOD 的主要来源，主要生产菌株为黑曲霉和青霉。

葡萄糖在葡萄糖氧化酶作用下，生成过氧化氢，过氧化氢在过氧化物酶的作用下使色原物质显色，通过 550 nm 处吸光度的大小来测定 GOD 的活力。

本试剂盒检测样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法。(货号：GBQ162)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	15 mL×1 瓶	30 mL×1 瓶	-20℃ 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃ 避光 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	1.6 mL×1 支	1.6 mL×2 支	-20℃ 避光 保存 3 个月
试剂四 (Reagent 4)	1 mmol/L 标准品 (1 mmol/L Standard)	1.6 mL×1 支	1.6 mL×2 支	-20℃ 避光 保存 3 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。
对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(540-560 nm，最佳检测波长 550 nm)，恒温箱(37°C)

试剂准备

① 检测前，试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液的配制：

使用前每支试剂二加入0.2 mL双蒸水溶解，现配现用，未用完部分-20°C分装避光可保存7天，禁止反复冻融。

③ 反应工作液的配制：

按照试剂一：试剂二工作液=49: 1的体积比配制反应工作液，现配现用，按需配制，配好的工作液置于冰上待用，4 h内有效。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	0.9	1
1 mmol/L 标准品(μL)	0	20	30	40	60	80	90	100
双蒸水(μL)	100	80	70	60	40	20	10	0

样本准备

① 样本处理

匀浆介质为生理盐水(0.9% NaCl)，离心取上清待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围(0.006-0.1 U/L)，来确定样本是否需要稀释。

操作步骤

- ① 标准孔：取 10 μL 不同浓度标准品加入对应的标准孔中。
测定孔：10 μL 待测样本加入对应的测定孔中。
- ② 向步骤①中各孔依次加入 200 μL 反应工作液。
- ③ 向步骤②中各孔依次加入 20 μL 试剂三。
- ④ 振板 3 s，酶标仪于 550 nm 波长检测各孔 OD 值 A_1 。
- ⑤ 37°C 孵育 20 min。
- ⑥ 酶标仪于 550 nm 波长检测各孔 OD 值 A_2 ，计算样本变化 OD 值 $\Delta A = A_2 - A_1$ ，标准品按照 A_2 值绘制标准曲线。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度标准品(μL)	10	--
待测样本(μL)	--	10
反应工作液(μL)	200	200
试剂三(μL)	20	20
振板 3 s，酶标仪于 550 nm 波长检测各孔 OD 值 A_1 。		
37°C 孵育 20 min，酶标仪于 550 nm 波长检测各孔 OD 值 A_2 ，计算样本变化 OD 值 $A_2 - A_1$ ，标准品按照 A_2 值绘制标准曲线。		

本试剂盒检测样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法。(货号：GBQ162)。

结果计算

标准曲线: $y = ax + b$

样本中葡萄糖氧化酶(GOD)活力计算公式:

定义: 37°C 条件下, 每克蛋白每分钟水解葡萄糖的过程生成 1 μmol 过氧化氢所需要的 GOD 酶量为一个活力单位。

$$\text{GOD 活性} \frac{(\text{U/gprot})}{=} (\Delta A_{550} - b) \div a \div T \times 1000 \div C_{\text{pr}} \times f$$

注解:

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时 OD 值, 标准品只需测 A_2 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{550} : 测定孔变化 OD 值

T: 孵育反应时间, 20 min

1000: 1 mmol/L=1000 $\mu\text{mol/L}$

C_{pr} : 样本的蛋白浓度, gprot/L

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

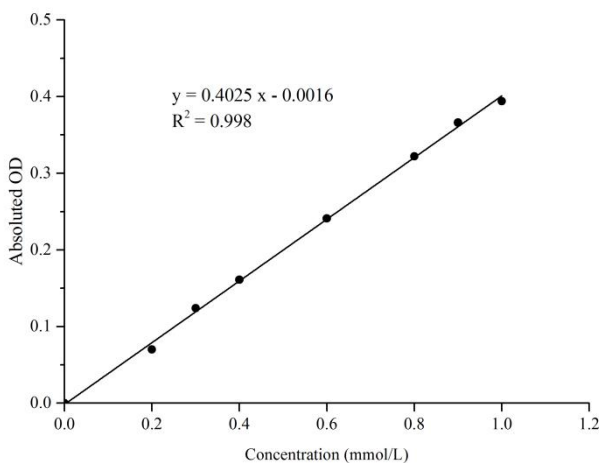
检测范围	0.006-0.1 U/L	平均批间差	7.0 %
灵敏度	0.006 U/L	平均批内差	3.0 %
平均回收率	101 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量10 μ L, 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	0.9	1
OD 值	0.041	0.112	0.166	0.202	0.279	0.362	0.41	0.432
	0.042	0.111	0.165	0.203	0.286	0.365	0.405	0.439
平均 OD 值	0.042	0.112	0.166	0.203	0.283	0.364	0.408	0.436
绝对 OD 值	0	0.07	0.124	0.161	0.241	0.322	0.366	0.394

② 绘制标曲(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。