

3-Phosphoglycerate oxidase (GPO) Activity assay Kit

3-磷酸甘油氧化酶 (GPO) 活性测定试剂盒说明书

货号: G0928F | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

3-磷酸甘油(G3P)被 3-磷酸甘油氧化酶(GPO)氧化生成过氧化氢(H_2O_2), H_2O_2 与 4-氨基氨基吡啶等反应生成红色醌类化合物, 其在 510nm 处有特征吸收峰, 通过检测 510nm 处吸光值变化即可得出 3-磷酸甘油氧化酶(GPO)活性大小。

二、试剂盒的组成和配制:

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	粉剂 mg×1 支	4°C保存	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部, 再加 1.2mL 蒸馏水溶解备用, 可-20°C分装冻存。
试剂二	液体 25mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 11mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、可调式移液枪、离心机、研钵。

四、3-磷酸甘油氧化酶(GPO)含量测定:

1、样本制备:

① 组织样本: 取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 细菌或细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞, 加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000 rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4): 提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min, 调节波长到 510 nm, 蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至 37°C或于 37°C水浴锅中水浴 5-10min。

③ 在 1mL 比色皿 (光径 1cm) 中依次加入:

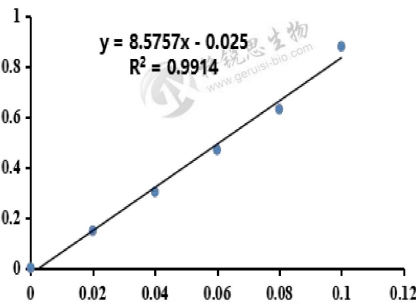
试剂名称 (μL)	测定管
样本	50
试剂一	20
试剂二	450
试剂三	200
混匀, 立即于 510nm 处读取 A1, 37°C孵育 30min 后读取 A2, $\Delta A=A_2-A_1$ 。	

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调;

针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程为 $y = 8.5757x - 0.025$ ；x 为标准品摩尔质量 (μmol)，y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每分钟分解底物生成 1nmol 的 H_2O_2 定义为一个酶活单位(U)。

$$\begin{aligned} \text{GPO 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.025) \div 8.5757 \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 77.7 \times (\Delta A + 0.025) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按照样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟分解底物生成 1nmol 的 H_2O_2 定义为一个酶活单位(U)。

$$\begin{aligned} \text{GPO 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A + 0.025) \div 8.5757 \times 10^3] \div (Cpr \times V1) \div T \times D \\ &= 77.7 \times (\Delta A + 0.025) \div Cpr \times D \end{aligned}$$

4、按细胞数量计算：

酶活定义：每 10^4 个细胞每分钟分解底物生成 1nmol 的 H_2O_2 定义为一个酶活单位(U)。

$$\begin{aligned} \text{GPO 活性}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.025) \div 8.5757 \times 10^3] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 77.7 \times (\Delta A + 0.025) \div 500 \times D \end{aligned}$$

5、按液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟分解底物生成 1nmol 的 H_2O_2 定义为一个酶活单位(U)。

$$\text{GPO 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.025) \div 8.5757 \times 10^3] \div V1 \div T \times D = 77.7 \times (\Delta A + 0.025) \times D$$

W---样品质量，g；

V---提取液体积，1 mL；

V1---上清液体积 (mL)，0.05mL；

T---反应时间，30 min；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

500---细胞数量，万；

Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。