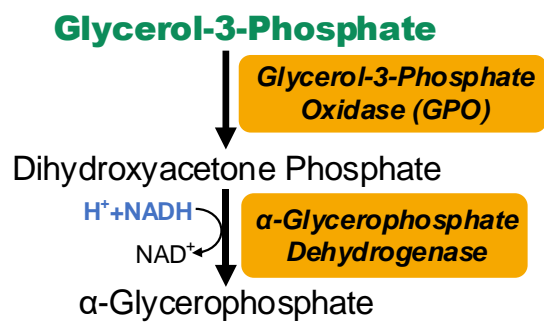




甘油-3-磷酸氧化酶 (GPO) 活性检测试剂盒  
Glycerol-3-Phosphate Oxidase (GPO) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 甘油-3-磷酸氧化酶 (GPO) 活性检测试剂盒

### Glycerol-3-Phosphate Oxidase (GPO) Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

甘油-3-磷酸氧化酶 (GPO) 是甘油代谢途径中的关键酶，其主要功能是催化甘油-3-磷酸的氧化反应，将甘油-3-磷酸转化为二羟基丙酮磷酸 (DHAP)，同时将 FAD 还原为 FADH<sub>2</sub>。这一过程不仅在甘油代谢中具有重要意义，还参与了线粒体呼吸链的电子传递，并通过氧化反应产生过氧化氢，在脂质代谢和能量代谢中发挥着重要作用。

甘油-3-磷酸氧化酶能够催化甘油-3-磷酸氧化为二羟基丙酮磷酸，进一步通过  $\alpha$ -甘油磷酸脱氢酶催化二羟丙酮磷酸和 NADH 生成  $\alpha$ -磷酸甘油和 NAD<sup>+</sup>，NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征甘油-3-磷酸氧化酶的活性。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	-20°C 保存	-
试剂二	液体 700 $\mu$ L×1 支	4°C 保存	使用前按试剂二：蒸馏水=3:7 体积比配制 (充分混匀，即为试剂二应用液)
试剂三	液体 15 $\mu$ L×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 2.5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融)
试剂四	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 2.4 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融)

#### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

##### 1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：(5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液) 处理样品，冰浴匀浆，4°C 15000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,按照细菌或细胞数量( $10^4$ 个):提取液体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议500万细菌或细胞加入1 mL提取液)处理样品,冰浴超声破碎(功率200 W,超声3 s,间隔7 s,总时间3 min),4°C 15000 g离心10 min,取上清置于冰上待测。

③血清(浆)、培养液等液体样本:直接检测或适当稀释后再进行检测。

## 2.测定步骤

①酶标仪预热30 min以上,调节波长至340 nm。

②试验前按使用量取出试剂一置于37°C预热10 min以上。

③在96孔UV板中依次加入下列试剂:

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
粗酶液	50	-
蒸馏水	-	50
试剂一	90	90
试剂二应用液	20	20
试剂三	20	20
试剂四	20	20

**吸光值测定:** ①充分混匀并立即开始计时,测定10 s(总时间)时340 nm处吸光值,记为A1测定和A1空白; ②37°C恒温准确反应600 s,测定610 s(总时间)时340 nm处吸光值,记为A2测定和A2空白; ③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ,  $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ,  $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。

注:空白组只需测定1-2次。

## 3.甘油-3-磷酸氧化酶(GPO)活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义:每mg组织蛋白每分钟消耗1 nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \times D}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{128.62 \times \Delta A \times D}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义:每g组织样本每分钟消耗1 nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPO (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9 \times D}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{128.62 \times \Delta A \times D}{W}$$

### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPO (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9 \times D}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{128.62 \times \Delta A \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

### ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPO (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \times D}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 128.62 \times \Delta A \times D$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$  L； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；T：反应时间，10 min；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计； $10^9$ ：单位换算系数，1 mol/L =  $10^9$  nmol/L；D：粗酶液稀释倍数，若未稀释则为 1。

## 四、注意事项

①若 A1 测定小于 A1 空白或  $\Delta A$  大于 1.0，建议将粗酶液使用蒸馏水适当稀释或缩短酶促反应时间（37°C 反应时间）后再进行测定；若  $\Delta A$  测定小于 0.02，建议适当增加样本量或延长酶促反应时间（37°C 反应时间）后再进行测定，计算时相应修改；

②准确在 10 s 和 610 s 处完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性和重复性；若同时测定多个样本时，应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；

③若测定吸光值大于 3.0，建议检查比色材质是否为 **96 孔 UV 板**；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**boxbio**

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

