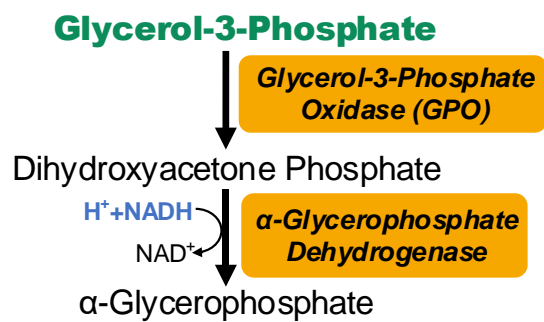




甘油-3-磷酸氧化酶 (GPO) 活性检测试剂盒
Glycerol-3-Phosphate Oxidase (GPO) Activity Assay Kit



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 FADH₂。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 α -甘油磷酸脱氢酶催化二羟丙酮磷酸和 NADH 生成 α -磷酸甘油和 NAD⁺，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 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	-20°C 保存	-
试剂二	液体 1.8 mL×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 35 μ L×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 6 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 6.6 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：紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、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紫外分光光度计预热30 min以上,调节波长至340 nm,蒸馏水调零。

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1 mL石英比色皿中依次加入下列试剂:

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	250	-
蒸馏水	-	250
试剂一	450	450
试剂二应用液	100	100
试剂三	100	100
试剂四	100	100

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。

$$\text{GPO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \times D}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{64.31 \times \Delta A \times D}{C_{\text{pr}}}$$

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。

$$\text{GPO (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9 \times D}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{64.31 \times \Delta A \times D}{W}$$

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。

$$\text{GPO (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9 \times D}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{64.31 \times \Delta A \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

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。

$$\text{GPO (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \times D}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 64.31 \times \Delta A \times D$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.25 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 1×10^{-3} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1.0 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， $1 \text{ mol/L} = 10^9 \text{ nmol/L}$ ；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 ΔA 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 ΔA 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；

③若测定吸光值大于 3.0，建议检查比色材质是否为石英比色皿（Q）；

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.

