

3-磷酸甘油氧化酶（GPO）活性测定试剂盒说明书

（货号：BN72011 分光法 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
氨替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℃保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	4℃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℃分 装冻存。
试剂二	液体 25mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 11mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4℃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℃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℃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。

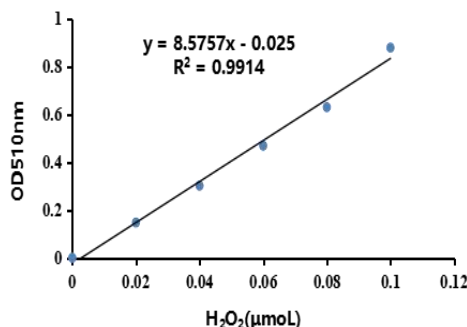
② 所有试剂解冻至 37℃或于 37℃水浴锅中水浴 5-10min。

③ 在 1mL 比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（ μ L）	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℃孵 育 30min 后读取 A2， $\Delta A=A_2-A_1$ 。	

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（ μ mol），y 为 ΔA 。



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 H₂O₂ 定义为一个酶活单位(U)。

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

$$= 77.7 \times (\Delta A + 0.025) \div W \times D$$

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 H₂O₂ 定义为一个酶活单位(U)。

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

$$= 77.7 \times (\Delta A + 0.025) \div Cpr \times D$$

4、按细胞数量计算：

酶活定义：每 10⁴ 个细胞每分钟分解底物生成 1nmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活单位(U)。

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

$$= 77.7 \times (\Delta A + 0.025) \div 500 \times D$$

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 H₂O₂ 定义为一个酶活单位(U)。

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

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。

附：标准曲线制作过程：

- 1 标准品浓度：试剂盒所带标准品母液浓度为 250mM。
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2mM。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 以上面不同浓度点为横坐标 (x)，对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y) 绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中计算 x (umol/mL)