



乙醇酸氧化酶活性检测试剂盒

GO Assay Kit

微量法

产品编号: AK512M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES512	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK512-A	15mL×1 瓶	4℃保存;
AK512-B	粉剂×1 瓶	4℃避光保存; 临用前加 5mL 双蒸水溶解; 用不完的试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融;
AK512-C	2mL×1 支	4℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 乙醇酸氧化酶 (glycollic oxidase, GO; EC1.1.3.1) 是植物光呼吸代谢中的关键酶, 也是光下合成草酸的关键酶, 它催化乙醇酸氧化生成乙醛酸, 对研究光呼吸代谢过程及其调控具有重要意义。

原理: 乙醇酸氧化酶催化乙醇酸氧化生成乙醛酸, 乙醛酸和盐酸苯肼反应生成乙醛酸苯腙, 在 324nm 有特征吸收峰。

自备用品:

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板)、天平、低温离心机。

酶液提取:

按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES512), 进行冰浴匀浆。12000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长至 324nm, 蒸馏水调零。
2. 取微量石英比色皿/96 孔板中依次加入:

试剂名称	测定管 (ul)
样本	10
AK512-A	130
AK512-B	40
AK512-C	20
充分混匀, 立即于微量石英比色皿/96 孔板中测定 324nm 处 10s 和 190s 吸光值 A1 和 A2, $\Delta A = A2 - A1$	

计算公式:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义: 每毫克蛋白每分钟氧化 1nmol 乙醇酸所需的酶量为一个酶活力单位。

GO 活性 (nmol/min /mg prot) = $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \times C_{pr}) \div T = 392 \times \Delta A \div C_{pr}$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义: 每克组织每分钟氧化 1 nmol 乙醇酸所需的酶量为一个酶活力单位。

GO 活性 (nmol/min /g 鲜重) = $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \times W \div V \text{ 样总}) \div T = 392 \times \Delta A \div W$

注： ϵ ：乙醛酸苯胺摩尔消光系数：17L/mmol/cm；d：比色皿光径，1cm；V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应中样本体积，0.01mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W，样本质量，g；T：反应时间，3min。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：每毫克蛋白每分钟氧化 1nmol 乙醇酸所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{GO 活性 (nmol/min /mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 784 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义：每克组织每分钟氧化 1nmol 乙醇酸所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{GO 活性 (nmol/min /g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 784 \times \Delta A \div W$$

注： ϵ ：乙醛酸苯胺摩尔消光系数：17L/mmol/cm；d：比色皿光径，0.5cm；V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应中样本体积，0.01mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W，样本质量，g；T：反应时间，3min。