

乙二醛酶 I (glyoxalase I, Gly I) 活性测定试剂盒

紫外法 48 样

产品简介:

乙二醛酶系统是甲基乙二醛 (MG) 的主要清除途径, 乙二醛酶 I (Gly I, EC 4.4.1.5)

是一种组成乙二醛酶系统的胞质酶。

乙二醛酶 I (Gly I) 通过催化甲基乙二醛 (MG) 和还原型谷胱甘肽形成 S-D-乳酰谷胱

甘肽(S-D-lactoylglutathione, SLG), SLG 在 240nm 处有特征吸收峰, 通过检测 240nm

值的增加速率, 进而计算出乙二醛酶 I (Gly I) 酶活性的大小。

试剂盒组成和配制:

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	液体×2 支	4°C保存	临用前甩几下或离心使液体落入底部, 每支再加入 1.1mL 蒸馏水, 混匀备用。
试剂二	粉体×1 支	4°C保存	临用前甩几下或离心使粉体落入底部, 再加入 2.2mL 蒸馏水, 混匀备用。
试剂三	液体 40mL×1 瓶	4°C保存	

所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿 (光径 1cm)、可调式移液器、研钵、蒸馏水。

乙二醛酶 I (Gly I) 活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验

样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本：

称取 0.1g 组织样本（水分充足可取 0.2g），先加入 1mL 的提取液，冰浴匀浆，12000rpm，4°C离心 10min，上清液待测。

[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、上机检测：

① 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 240nm，蒸馏水调零。

② 制备反应 mix：按照试剂一：试剂二：试剂三=10:10:160 的比例混合，避光孵育 10min，两个小时内用完。

③ 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入下列试剂：

试剂名称（ μL ）	测定管
反应 mix	650
样本	70
混匀，室温（25°C）下，30s 时于 40nm 处读取吸光值 A1，5min 后再读取 A2。 $\Delta A=A2-A1$ 。	

[注]：1. 若 ΔA 值在零附近徘徊，可增加反应时间 T（如增至 10min 后读取 A2），则改变后的 T 需代入公式计算。

2. 若起始值 A1 太大如超过 2（如颜色较深的植物叶片，一般色素较高，则起始值相对会偏高），可以对样本用蒸馏水进行稀释（如稀释 3 倍），则稀释倍数 D 需代入计算公式重新计算。

结果计算：

1、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟生成 1nmol 的 SLG 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{Gly I (nmol/min/mg prot)} &= [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V2] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \times D \\ &= 610.4 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times D\end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟生成 1nmol 的 SLG 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{Gly I (nmol/min/g 鲜重)} &= [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V2] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 610.4 \times \Delta A \div W \times D\end{aligned}$$

V1---加入样本体积，0.07mL； V---加入提取液体积，1mL；

V2---反应体系总体积， 7.2×10^{-4} L； d---光径，1cm；

W---样本质量，g； T---反应时间，5min；

ϵ ---SLG 的摩尔消光系数， 3.37×10^3 L/mol/cm； D---稀释倍数，未稀释即为 1。

Cpr---蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。