

Megazyme

D-グルコース分析法 (GOPOD法)

D-GLUCOSE
ASSAY PROCEDURE
(GOPOD-FORMAT)

K-GLUC 08/18

K-GLUC
(用手法 660 回分)

日本バイオコン株式会社

はじめに - INTRODUCTION -

体液中の D-グルコースは、グルコースオキシダーゼ/パーオキシダーゼ法、ヘキソキナーゼ/G6P-DH法などの酵素法による市販キットを用いて簡単に測定することができます。一方、植物抽出物中の D-グルコースは通常、マルトース、マルトサッカライド、澱粉、スクロースや β-結合型グリコオリゴ糖と一緒に存在しているため、分析試薬の純度により厳しい精度が要求されます。

試薬には澱粉分解酵素、スクロース分解酵素および β-グルコシダーゼが含まれてはなりません。なぜなら、これら酵素は D-グルコースを含有するオリゴ糖類または多糖類(例えば大麦 β-グルカン)を分解し試料中の遊離 D-グルコースの過大評価または過小評価に繋がるからです。

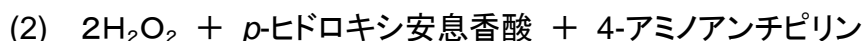
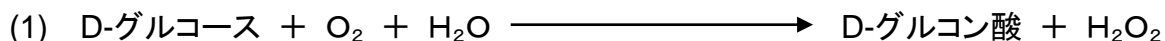
残念ながら、グルコースオキシダーゼ/パーオキシダーゼ反応に基づくほとんどの市販 D-グルコースキットは、純度が充分とは言えないのが現状です。

メガザイムの D-グルコース(グルコースオキシダーゼ/パーオキシダーゼ; GOPOD)分析キットは、高純度のグルコースオキシダーゼとパーオキシダーゼを使用しており、植物材料や食品抽出物中の D-グルコースの特異的測定にも安心してご使用戴けます。この呈色は発色後少なくとも2時間室温で安定です。

原理 - PRINCIPLE -

反応は以下の通りです。

(グルコースオキシダーゼ)



(パーオキシダーゼ)



キット - KITS -

660 検体分析用キット(分析当たり 3mL)を提供しております。

キットには以下のものが含まれます。

ボトル1(2本): GOPOD試薬緩衝液。緩衝液(50mL, pH 7.4)。p-ヒドロキシ安息香酸および 0.095%(w/v)アジ化ナトリウム含有。4°Cで4年以上安定です。

ボトル2(2本): GOPOD試薬酵素。グルコースオキシダーゼ+パーオキシダーゼと 4-アミノアンチピリン含有。凍結乾燥粉末。-10°C以下で5年以上安定です。

ボトル3: D-グルコース標準液(5mL, 1.0mg/mL)。0.2% (w/v)安息香酸含有。室温で5年以上安定です。

試薬溶液/懸濁液の調製

- PREPARATION OF REAGENT SOLUTIONS/SUSPENSIONS -

1. ボトル1(GOPOD試薬緩衝液)1本の内容物を蒸留水で1Lに希釈します。
これが溶液1です。

NOTE:

1. 緩衝液濃度が高いため、保存中に塩の結晶が生じることがあります。
この緩衝液を蒸留水で1Lに希釈する際には、結晶を完全に溶解して下さい。
2. この緩衝液には、0.095%(w/v)のアジ化ナトリウムが含まれています。
これは有毒化学物質ですので、留意してお取り扱い下さい。

2. ボトル2の内容物を約 20mL の溶液3に溶解し、これを残りの溶液1の容器に全量に移します。このボトルをアルミニウム箔で覆い、試薬を遮光保管します。これがグルコース測定試薬(GOPOD試薬)です。2~5°Cで約3ヶ月、-10°C以下で12ヶ月以上安定です。

凍結保存する場合は、1回の分析で使い切れる適量ずつ小分けにして保存して下さい。決して凍結／融解を繰り返さない下さい。

試薬を新しく調製した際に、試薬が淡く黄色～ピンク色を呈していることがあります。ピンク色の着色は4°Cで2~3ヶ月保存している間にさらに強くなります。この試薬の吸光度は、蒸留水に対し 0.05 未満でなければなりません。それを上回る場合は新しい試薬をご用意下さい。

分析条件

波長:	510nm
反応温度	40°Cから 50°C
光路	1cm
分析対照	試薬ブランク

分析法

GOPOD試薬 3.0mL を 0.1mL のサンプル溶液に添加し、40~50°Cで20分間反応させます(以下の表を参照)。試薬ブランクに対して 510nm の吸光度を測定し、 ΔA_{glc} 並びに ΔA_{std} (グルコース 100 μg)を取得します。

計算式

$$D - \text{グルコース} (\mu\text{g}/0.1\text{mL}) = \frac{\Delta A_{\text{glc}}}{\Delta A_{\text{std}}} \times 100$$

$$D - \text{グルコース} (\text{mg}/\text{L}) = \frac{\Delta A_{\text{glc}}}{\Delta A_{\text{std}}} \times 1000$$

ピペットでキュベットに添加	ブランク	標準	サンプル
GOPOD試薬	3.0 mL	3.0 mL	3.0 mL
グルコース標準液	-	0.1 mL	-
試料	-	-	0.1 mL
緩衝液または水	0.1 mL	-	-

文献 - REFERENCES -

1. Trinder, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. (1969). *Ann. Clin. Biochem.*, **6**, 24-27.
2. Blakeney, A. B. & Matheson, N. K. Some properties of the stem and pollen starches of rice. (1984). *Starch*, **36**, 265-269.
3. McCleary, B. V. & Codd, R. Measurement of (1→3),(1→4)- β -D-glucan in barley and oats: A streamlined enzymic procedure. (1991). *J. Sci. Food Agric.*, **55**, 303.

日本バイオコン株式会社

名古屋本社

〒454-0852 名古屋市中川区昭和橋通三丁目 23 番地1 バイオコンビル

TEL 052-661-8105 (代表) FAX 052-659-0888

TEL 052-659-4898 (試薬担当直通)

E-mail : bj-megazyme@biocon.co.jp

Homepage : <http://www.biocon.co.jp>

この小冊子に記載されている情報は、当社が知る限りにおいて事実かつ正確に記載されていますが、使用条件が当社の管理範囲外であるため、本文中にどのような推奨や示唆があったとしても、如何なる使用も特許を侵害しないということを保証しているものではありません