葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)含量试剂盒(酶法)（紫外分光光度法）

产品货号：BA2742

产品规格：48样

产品简介：

糖原和淀粉在磷酸解过程中会生成葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)。本试剂盒提供一种简单,灵敏，快速的测定方法：葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)在磷酸葡萄糖变位酶和磷酸葡萄糖脱氢酶的相继作用下使$NADP^+$还原成NADPH，通过检测NADPH在340nm处的增加量即可计算得出样品中的葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)含量。

测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存温度	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉体mg×1支	2-8℃	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加1.8mL蒸馏水溶解备用。
试剂二	粉体mg×1支	-20℃	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加1.8mL蒸馏水溶解备用。可-20℃分装冻存。
试剂三	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	粉体mg×1支	-20℃	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加1.2mL蒸馏水溶解备用。可-20℃分装冻存。
标准品	粉体×1支	2-8℃	仅用来鉴定试剂盒中试剂是否正常(不参与结果计算)。使用方法：用前标准管(GIP)甩几下使粉剂落入底部，再加0.5mL蒸馏水混匀溶解即浓度为4mg/mL，再稀释8倍成0.5mg/mLG1P后备用；按照加样表中的测定管操作(样本更换成备用浓度的标准品)。

所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL石英比色皿(光径1cm)、台式离心机、可调式移液器、研钵、水浴锅、冰和蒸馏水。

葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)含量测定：

1. 样本制备：

(1) 组织样本：

建议称取约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，可以按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

(2) 细菌/细胞样本：

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200W，超声3s，间隔10s，重复30次)；12000rpm 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。

2. 上机检测：

(1) 紫外分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。

扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
电话：400-611-0007 13671551480
Q Q：807961520
邮箱：saintbio@126.com
http://www.saint-bio.com

(2) 试剂解冻至室温(25℃)。

(3) 试剂一和二和三可按照30:30:560比例配成混合液(一枪加620μL该混合液)(该混合液用多少配多少，现配现用)。

(4) 在1mL石英比色皿(光径1cm)中按照下表依次加入试剂：

试剂名称（μL）	测定管	空白管（仅做一次）
试剂一	30	35
试剂二	30	35
试剂三	560	630
样本	80	-
混匀，于室温(25℃)下孵育20min后于340nm处读取A1(若A值继续增加，需延长孵育时间，直至2分钟内吸光值不变)。		
试剂四	20	20
混匀，于室温(25℃)下孵育20min后于340nm处读取A2(若A值继续增加，需延长孵育时间，直至2分钟内吸光值不变)。ΔA=(A2-A1)测定-(A2-A1)空白。		

【注】1. 若ΔA的差值在零附近徘徊，可增加样本量V1(如增至150μL，则试剂三相应减少，保持总体积不变)，或增加样本取样质量W，则改变后的V1和W需代入公式重新计算。

2. 若A2值超过1.2，可减少加样量V1(如减至40μL，则试剂三相应增加，保持总体积不变)或对样本用蒸馏水稀释(保持加样体系不变)，则改变后的V1和D需代入公式重新计算。

结果计算：

1. 按样本重量计算：

1PG/G1P 含量(μg/g 鲜重)=[(ΔA÷(ε×d)×V2×10^6×Mr]÷(W×V1÷V)×D=365.8×ΔA÷W×D

2. 按细胞数量计算：

1PG/G1P 含量(μg/10^4cell)=[(ΔA÷(ε×d)×V2×10^6×Mr]÷(500×V1÷V)×D=0.74×ΔA×D

3. 按照液体体积计算：

1PG/G1P 含量(μg/mL)=[(ΔA÷(ε×d)×V2×10^6×Mr]÷V1=365.8×ΔA

ε---NADPH 摩尔消光系数，6.22×10^3L/mol/cm；d---光径，lcm；V---加入提取液体积，1mL；V1---加入样本体积，0.08mL；V2---反应总体积；0.7mL=7×10^{-4}L；Mr---葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)分子量；260；W---样本质量，g；500---细胞数量，万；D---稀释倍数，未稀释即为1。