

血中果糖含量试剂盒(HK酶法) (紫外分光光度法)

产品货号: BA2847

产品规格: 48样

产品简介:

果糖是一种常见的己酮糖,是葡萄糖的同分异构体。本试剂盒提供一种定量、快速、简单、灵敏的检测果糖含量方法,果糖经特异性酶作用后转化为葡萄糖,葡萄糖在己糖激酶等酶复合物作用下,使NADPH的量不断增加,通过检测340nm下该物质的增加量,进而计算得到果糖含量。

产品内容:

产品名称	规格	保存条件	备注
试剂A	粉剂mg×2支	-20°C	临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加0.6mL的蒸馏水溶解。
试剂B	粉剂mg×1支	-20°C	临用前甩几下使粉体落入底部,再加0.65mL的蒸馏水溶解。
试剂C	液体5mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	粉剂×1支	-20°C	临用前甩几下或离心,使粉剂落入底部,再加1.4mL蒸馏水备用。
试剂二	液体25mL×1瓶	2-8°C	
试剂三	粉剂×1支	-20°C	临用前甩几下或离心,使粉剂落入底部,再加1.4mL蒸馏水备用。
试剂四	液体μL×1支	-20°C	临用前甩几下或离心,使微量液体落入底部,再加1.4mL蒸馏水备用。

所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL石英比色皿(光径1cm)、天平、移液器、研钵、离心机、蒸馏水。

果糖含量检测:

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:

血样样本(建议先选取2个样本做预测定,依据结果判断是否采用除葡萄糖步骤):

1-1: 澄清的血样样本直接测定;

1-2: 澄清的血样样本但含有高背景的葡萄糖含量即出现注意事项中第2项情况,可取100-200μL血样样本至新的EP管中,依次加入20μL的试剂A和10μL试剂B和70μL试剂C混匀(此时稀释倍数记为D1),置于室温(25°C)孵育60min(间隔10-15min开盖一次(开盖后摇晃混匀几下并于开盖状态下静止约2min),孵育结束后于95度煮沸10min,至室温后于12000rpm离心10min,取上清液作为样本待测定。

1-3: 若血样样本浑浊且含有高背景的葡萄糖含量即出现注意事项中第2项情况,可取100μL血样样本至新的EP管中,加200μL无水乙醇,混匀静止5min,12000rpm离心后取全部上清液至一新的EP管中,依次加入20μL的试剂A和10μL试剂B和70μL试剂C混匀(此时稀释倍数记为D2),置于室温(25°C)孵育60min(间隔10-15min开盖一次(开盖后摇晃混匀几下并于开盖状态下静止约2min),孵育结束后于95度煮沸10min,至室温后于12000rpm离心10min,取上清液作为样本待测定。

2. 上机检测:



扫一扫 加微信

上海尚宝生物技术有限公司

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

- ① 紫外分光光度计预热30min, 设置温度在25°C, 设定波长到340nm。
- ② 若样本上清液是经过除葡萄糖处理的, 可先做几个预测定, 依据结果考虑是否增加样本上样量。
- ③ 在1mL石英比色皿(光径1cm)中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	25	
试剂一	25	25
试剂二	600	625
试剂三	25	25
混匀, 反应20min于340nm处读取各管的A1值(若A值继续增加, 需延长反应时间, 直至2分钟内的吸光值保持不变)		
试剂四	25	25
混匀, 反应20min于340nm处读取各管的A2值(若A值继续增加, 需延长反应时间, 直至2分钟内的吸光值保持不变)ΔA=(A2-A1)测定-(A2-A1)空白。		

【注】1. 检测反应20min后是否反应完全, 在准备读值时可改用时间扫描: 3min, 间隔1min, 依此判读反应是否完全。然后再读取各测定管的A值。

2. 若A1值大于1.3且ΔA差值低于0.01, 则说明样本中含有高背景葡萄糖, 但果糖含量偏低; 可先对样本进行除葡萄糖处理, 再增加样本加样量V1: 如40μL, 则试剂二相应减少。则改变后的V1代入公式重新计算。

3. 若A1值低于1.3, 但ΔA差值低于0.01, 可增加样本加样量V1: 如40μL, 则试剂二相应减少。则改变后的V1代入公式重新计算。

4. 若A1低于1.0, A2值超过1.8, 可以减少样本加样量: 如5μL, 则试剂二相应增加; 或对样本用蒸馏水进行稀释, 稀释倍数D代入计算公式计算。

结果计算:

1. 按照血样样本计算:

1-1 计算公式: 果糖含量(mg/mL)=[ΔA÷(ε×d)×V2×Mr×10³]÷V1×D=0.8×ΔA×D

1-2 计算公式: 果糖含量(mg/mL)=[ΔA÷(ε×d)×V2×Mr×10³]÷V1×D1×D=0.8×ΔA×D1×D

1-3 计算公式: 果糖含量(mg/mL)=[ΔA÷(ε×d)×V2×Mr×10³]÷V1×D2×D=0.8×ΔA×D2×D

ε---NADPH的摩尔消光系数, 6.3×10³L/mol/cm; d---lcm; V---加入提取液体积, 1mL; V1---加入样本体积, 0.025mL; V2---反应总体积, 7×10⁻⁴L; Mr---果糖分子量, 180.16; D---所有经过处理或未处理的血样加入比色皿测定时的稀释倍数, 未稀释即为1; D1---若取100μL血样除葡萄糖则稀释倍数为200/100=2; 若取200μL, 则稀释倍数为1.5; D2---若取100mL血样由浑浊变澄清以及除糖则稀释倍数为400/100=4。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物技术有限公司

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>