

葡萄糖检测试剂盒(己糖激酶微板法)

产品货号: BA3206

产品规格: 96样

产品简介:

葡萄糖, 是产生能量分子ATP的主要来源。本试剂盒提供一种定量、快速、简单、灵敏的检测方法, 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, 进而计算得到葡萄糖含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件	备注
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1.1mL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1.1mL蒸馏水备用

所需仪器和用品:

酶标仪、96孔板、天平、移液器、研钵、离心机、蒸馏水。

葡萄糖含量检测:

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:

① 组织样本: 0.1g 组织样本(水分充足的样本建议取0.2g左右), 加1mL的蒸馏水研磨, 粗提液全部转移到EP管中, 12000rpm, 常温离心10min, 上清液待测。注: 若组织样本蛋白含量很高, 可先进行脱蛋白处理。

【注】: 做实验前可以选取几个样本, 找出适合本次检测样本的稀释倍数D, 果实样本含糖量较高, 可稀释20-40倍; 叶片样本可稀释2-5倍。

② 细胞/菌类样本: 先收集细胞或细菌到离心管内, 离心弃上清; 取500万细菌或细胞加入1mL蒸馏水; 冰浴超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率20%或200W, 超声3S, 间隔10S, 重复30次); 12000rpm, 常温离心10min, 取上清液待测。

【注】: 也可按照细菌或细胞数量(10^4 个): 提取液体积(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③ 液体样品: 近似中性的澄清液体样本可直接检测; 若为酸性样本则需先用NaOH(2M)调PH值约7.4, 然后室温静置30min, 取澄清液体直接检测。

【注】可选取几个样本, 进行不同倍数的稀释, 选取适合本次样本的稀释倍数D。

2. 上机检测:

① 酶标仪预热30min, 设置温度在25°C, 设定波长到340nm。

② 在96孔板中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	空白管(仅做一次)
样本	10	-



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

QQ: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂一	10	10
试剂二	160	170
混匀, 5min 后于 340nm 处读取各管的 A1 值		
试剂三	10	10
混匀, 反应 20min 后于 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), $\Delta A=(A2-A1)$ 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 A2 值超过 1.5, 可以减少样本加样量: 如 5 μ L, 则试剂二相应增加; 或对样本进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式计算。
3. 若 ΔA 的差值较小, 可增加样本量: 如 30 μ L, 则试剂二相应减少。

结果计算:

1. 按照质量计算:

$$\text{葡萄糖含量(mg/g 鲜重)}=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \times D = 1.1439 \times \Delta A \div W \times D$$

2. 按照细胞数量计算:

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{g}/10^4\text{cell})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 1143.9 \times \Delta A \div 500 \times D$$

3. 按照体积计算:

$$\text{葡萄糖含量(mg/mL)}=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div V1 \times D = 1.1439 \times \Delta A \times D$$

ϵ ---NADPH 的摩尔消光系数, $6.3 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$; d ---0.5cm; V ---加入提取液体积, 1mL; $V1$ ---加入样本体积, 0.01mL; $V2$ ---反应总体积, $2 \times 10^{-4}\text{L}$; Mr ---葡萄糖分子量, 180.16; W ---样本鲜重, g; 500-细胞数量, 万; D ---稀释倍数, 未稀释即为。



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>