

葡萄糖含量试剂盒(HK酶法) (紫外分光光度法)

产品货号: BA2748

产品规格: 48样

产品简介:

葡萄糖($C_6H_{12}O_6$), 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。

测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂×1支	-20℃	临前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加1.4mL蒸馏水备用
试剂二	液体35mL×1瓶	2-8℃	
试剂三	粉剂×1支	-20℃	临前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 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、水浴锅、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】: A.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。

B.若离心后的上清液(高脂或高蛋白样本如动物组织等)比较浑浊, 可取出上清液转移至新EP管中再次或多次离心后取上清液测定; 也可取上清液于95℃孵育5-10min后离心取上清液测定。

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 紫外分光光度计预热30min, 设置温度在25℃, 设定波长到340nm, 蒸馏水调零。

② 试剂解冻至室温(25℃), 或可放在25℃条件下水浴5-15min。

③ 试剂一和二可按照25:600比例配成混合液(一枪加625μL该混合液)(该混合液用多少配多少, 现配现用)。



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

④ 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	625	625
混匀, 室温 (25℃) 下, 5min后于340nm处读取各管A1值		
试剂三	25	25
混匀, 室温(25℃)下, 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分钟内变化值在0.1内), $\Delta A = (A2 - A1)$ 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大于1.5, 可以适当减少样本量(如10μL, 则试剂二相应增加)。

3. 若ΔA小于0.01, 可增加样本量; 如50μL, 则试剂二相应减少。

结果计算:

1. 按照质量计算:

$$\text{葡萄糖含量(mg/g鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \times D = 0.8 \times \Delta A \div W \times D$$

2. 按照细胞数量计算:

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{g}/10^4\text{cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 800.7 \times \Delta A \div 500 \times D$$

3. 按照体积计算:

$$\text{葡萄糖含量(mg/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div V1 \times D = 0.8 \times \Delta A \times D$$

ϵ ---NADPH的摩尔消光系数, $6.3 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d ---光径, 1cm; V ---加入提取液体积, 1mL; $V1$ ---加入样本体积, 0.025mL; $V2$ ---反应总体积, $7 \times 10^{-4} \text{ L}$; 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1。



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