

葡萄糖含量检测试剂盒 (分光光度计法) (本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0432	葡萄糖含量检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 10mL × 1 瓶: 0.5μmol/mL 葡萄糖溶液。	4℃
试剂二	液体 25mL × 1 瓶 (若出现结冰现象, 可 37℃ 水浴溶解)	-20℃
试剂三	液体 25mL × 1 瓶	4℃

一、产品说明

葡萄糖不仅是细胞能量代谢的主要底物, 而且其代谢中间产物是生物合成的重要底物。植物可通过光合作用产生葡萄糖。就哺乳动物而言, 葡萄糖不仅是大脑神经系统、肌肉、脂肪组织等的唯一能源, 而且与还原性辅酶、乳糖和乳脂的合成密切相关。

葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化成葡萄糖酸, 并产生过氧化氢; 过氧化物酶催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚, 生成有色化合物, 在 505 nm 有特征吸收峰。

二、自备材料

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、蒸馏水。

三、样品准备

1、组织: 按照质量 (g) : 蒸馏水体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 蒸馏水), 研磨匀浆, 95℃ 水浴 10min (拧紧盖子, 防止水分散失), 冷却后 8000g 25℃ 离心 10min, 取上清测定。

2、细菌或细胞: 收集细胞/细菌到离心管内, 离心去上清, 按照细胞数量(10^4 个): 蒸馏水体积(mL) 为 500~1000: 1 的比例(建议 500 万细胞加入 1mL 蒸馏水), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 200w, 超声 3 秒, 间隔 10 秒, 重复 30 次); 95℃ 水浴 10min (拧紧盖子, 防止水分散失), 冷却后 8000g 25℃ 离心 10min, 取上清测定。

3、液体: 离心后取上清, 直接测定。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 505nm, 蒸馏水调零。

2、混合试剂的配制: 使用前将试剂二和试剂三 1:1 等体积混合, 用多少配多少。

3、操作表: (在 EP 管中加入下列试剂)

试剂名称 (μL)	空白管	标准管	测定管
样品			100
试剂一		100	
蒸馏水	100		

混合试剂	900	900	900
混匀, 置 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 水浴中, 保温 15min, 于 505nm 波长处读取吸光度。空白管、标准管和测定管吸光值分别记为 A1、A2 和 A3。空白管和标准管只要做一管。			

五、含量的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

$$\text{葡萄糖含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = (C \text{ 标准} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (V1 \times Cpr) \\ = 0.5 \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div Cpr。$$

2、按照样本鲜重计算:

$$\text{葡萄糖含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) = (C \text{ 标准} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (W \times V1 \div V2) \\ = 0.5 \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div W。$$

3、按照细胞数量计算:

$$\text{葡萄糖含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ ceLL}) = (C \text{ 标准} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (500 \times V1 \div V2) \\ = 0.001 \times (A3-A1) \div (A2-A1)。$$

4、按照液体体积计算:

$$\text{葡萄糖含量 } (\mu\text{mol/mL}) = (C \text{ 标准} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div V1 \\ = 0.5 \times (A3-A1) \div (A2-A1)。$$

C 标准: 标准管浓度, 0.5 $\mu\text{mol/mL}$; V1: 加入样本体积, 0.1mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

六、注意事项

- 1、本试剂盒最低检测限为 50nmol/g 鲜重或者 0.05nmol/mg prot。
- 2、若样本中存在葡萄糖氧化酶抑制剂, 则会造成测定结果偏低, 建议改用 HPLC 法测定。