

葡萄糖含量试剂盒(HK酶法)（微板法）

产品货号：BA2747

产品规格：96样

产品简介：

葡萄糖(C₆H₁₂O₆)，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1.1mL蒸馏水备用
试剂二	液体25mL×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1.1mL蒸馏水备用

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、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 酶标仪预热30min，设置温度在25℃，设定波长到340nm。

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10:160比例配成混合液(一枪加170μL该混合液)(该混合液用多少配多少，现配现用)。

④ 在96孔板中依次加入：



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	
试剂一	10	10
试剂二	160	170
混匀, 室温 (25℃) 下, 5min后于340nm处读取各管A1值		
试剂三	10	10
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), $\Delta A = (A2 - A1)_{\text{测定}} - (A2 - A1)_{\text{空白}}$		

【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5μL, 则试剂二相应增加)。

3. 若ΔA小于0.01, 可增加样本量; 如30μL, 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 ---光径, 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1。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com