

葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)含量试剂盒(酶法) (微板法)

产品货号: BA2741

产品规格: 96样

产品简介:

糖原和淀粉在磷酸解过程中会生成葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)。本试剂盒提供一种简单,灵敏,快速的测定方法:葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)在磷酸葡萄糖变位酶和磷酸葡萄糖脱氢酶的相继作用下使NADP⁺还原成NADPH,通过检测NADPH在340nm处的增加量即可计算得出样品中的葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)含量。

测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存温度	备注
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉体mg×1支	2-8℃	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加1.2mL蒸馏水溶解备用。
试剂二	粉体mg×1支	-20℃	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加1.2mL蒸馏水溶解备用。可-20℃分装冻存。
试剂三	液体16mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	粉体mg×1支	-20℃	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加1.1mL蒸馏水溶解备用。可-20℃分装冻存。
标准品	粉体×1支	2-8℃	仅用来鉴定试剂盒中试剂是否正常(不参与结果计算)。使用方法: 用前标准管(G1P)甩几下使粉剂落入底部, 再加0.5mL蒸馏水混匀溶解即浓度为4mg/mL, 再稀释8倍成0.5mg/mL G1P后备用; 按照加样表中的测定管操作(样本更换成备用浓度的标准品)。

所需的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、水浴锅、冰和蒸馏水。

葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)含量测定:

1. 样本制备:

(1) 组织样本:

建议称取约0.1g组织, 加入1mL提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可以按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

(2) 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约500万细菌或细胞加入1mL提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 12000rpm 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10⁴):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

(3) 液体样本: 直接检测。

2. 上机检测:

(1) 酶标仪预热30min以上, 调节波长至340nm。

(2) 试剂解冻至室温(25℃)或可放在25℃条件下水浴5-15min。



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

- (3) 试剂一和二和三可按照10:10:150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孔板中按照下表依次加入试剂:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
试剂一	10	10
试剂二	10	10
试剂三	150	170
样本	20	-
混匀, 于室温(25℃)下孵育20min后于340nm处读取A1(若A值继续增加, 需延长孵育时间, 直至2分钟内吸光值不变)。		
试剂四	10	10
混匀, 于室温(25℃)下孵育20min后于340nm处读取A2(若A值继续增加, 需延长孵育时间, 直至2分钟内吸光值不变)。ΔA=(A2-A1)测定-(A2-A1)空白。		

【注】1. 若ΔA的差值在零附近徘徊, 可增加样本量V1(如增至50μL, 则试剂三相应减少, 保持总体积不变), 或增加样本取样质量W, 则改变后的V1和W需代入公式重新计算。

2. 若A2值超过1.2, 可减少加样量V1(如减至10μL, 则试剂三相应增加, 保持总体积不变)或对样本用蒸馏水稀释(保持加样体系不变), 则改变后的V1和D需代入公式重新计算。

结果计算:

1. 按样本重量计算:

$$\text{IPG/G1P 含量}(\mu\text{g/g 鲜重})=[(\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6 \times Mr) \div (W \times V1 \div V) \times D = 836 \times \Delta A \div W \times D$$

2. 按细胞数量计算:

$$\text{IPG/G1P 含量}(\mu\text{g}/10^4\text{cell})=[(\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6 \times Mr) \div (500 \times V1 \div V) \times D = 1.7 \times \Delta A \times D$$

3. 按照液体体积计算:

$$\text{IPG/G1P 含量}(\mu\text{g/mL})=[(\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6 \times Mr) \div V1 = 836 \times \Delta A$$

ε---NADPH 摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$; d---光径, 0.5cm; V---加入提取液体积, 1mL; V1---加入样本体积, 0.02mL; V2---反应总体积; $0.2\text{mL} = 2 \times 10^{-4}\text{L}$; Mr---葡萄糖-1-磷酸(IPG/G1P)分子量; 260; W---样本质量, 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