

Glucose Content Assay Kit

葡萄糖含量测定试剂盒(HK 酶法) 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1791A	葡萄糖含量测定试剂盒(HK 酶法) 分光法	48T

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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉末×1 支	-20°C保存	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加 1.4mL 蒸馏水备用
试剂二	35mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	粉末×1 支	-20°C保存	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加 1.4mL 蒸馏水备用

使用方法:

一、样本准备

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, 粗提液全部转移到离心管中;
- 12000rpm, 室温离心 10min, 取上清液待测。(若组织样本蛋白含量很高, 可进行脱蛋白处理)。

【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/细菌样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- 取 5×10⁶ 个细菌或细胞加入 1mL 蒸馏水, 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°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每 0.5~1×10⁷ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本:

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。

二、样品测定

- 紫外分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
- 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, 5min后于340nm处读取各管的A1值		
试剂三	25	25
混匀, 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 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 的差值较小, 可增加样本量: 如 50μL, 则试剂二相应减少。

三、结果计算

1. 按照样品质量计算:

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

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 ---NADH 摩尔消光系数, 6.3×10^3 L/mol/cm V---加入提取液体积, 1mL
 V1---加入样本体积, 0.025mL d---光径, 1cm
 V2---反应总体积, 7.2×10^{-4} L W---样本质量, g
 Mr---葡萄糖分子量, 180.16 500---细胞数量, 万
 D---稀释倍数, 未稀释即为 1

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C保存三个月。

