

血中果糖含量试剂盒(HK酶法) (微板法)

产品货号: BA2846

产品规格: 96样

产品简介:

果糖是一种常见的己酮糖,是葡萄糖的同分异构体。本试剂盒提供一种定量、快速、简单、灵敏的检测果糖含量方法,果糖经特异性酶作用后转化为葡萄糖,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,进而计算得到果糖含量。

产品内容:

产品名称	规格	保存条件	备注
试剂A	粉剂mg×2支	-20℃	临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加1.2mL的蒸馏水溶解,静置十分钟左右取上清液测定。
试剂B	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下使粉体落入底部,再加1.2mL的蒸馏水溶解。
试剂C	液体10mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂×1支	-20℃	临用前甩几下或离心,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℃	临用前甩几下或离心,使粉剂落入底部,再加1.1mL蒸馏水备用。
试剂四	液体μL×1支	-20℃	临用前甩几下或离心,使微量液体落入底部,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、可调式移液器、研钵、离心机、蒸馏水。

果糖含量检测:

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:

血样样本(建议先选取2个样本做预测定,依据结果判断是否采用除葡萄糖步骤):

1-1: 澄清的血样样本直接测定;

1-2: 澄清的血样样本但含有高背景的葡萄糖含量即出现注意事项中第2项情况,可取100-200μL血样样本至新的EP管中,依次加入20μL的试剂A和10μL试剂B和70μL试剂C混匀(此时稀释倍数记为D1),置于室温(25℃)孵育60min(间隔10-15min开盖一次(开盖后摇晃混匀几下并于开盖状态下静置约2min),孵育结束后于95度煮沸10min,至室温后于12000rpm离心10min,取上清液作为样本待测定。

1-3: 若血样样本浑浊且含有高背景的葡萄糖含量即出现注意事项中第2项情况,可取100μL血样样本至新的EP管中,加200μL无水乙醇,混匀静置5min,12000rpm离心后取全部上清液至一新的EP管中,依次加入20μL的试剂A和10μL试剂B和70μL试剂C混匀(此时稀释倍数记为D2),置于室温(25℃)孵育60min(间隔10-15min开盖一次(开盖后摇晃混匀几下并于开盖状态下静置约2min),孵育结束后于95度煮沸10min,至室温后于12000rpm离心10min,取上清液作为样本待测定。

2. 上机检测:

① 酶标仪预热30min,设置温度在25℃,设定波长到340nm。



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

- ② 若样本上清液是经过除葡萄糖处理的，可先做几个预测定，依据结果考虑是否增加样本上样量。
- ③ 在96孔板中依次加入：

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
试剂三	10	10
混匀，反应20min于340nm处读取各管的A1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)		
试剂四	10	10
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A1值大于1.2且 ΔA 差值低于0.01，则说明样本中含有高背景葡萄糖，但果糖含量偏低；可先对样本进行除葡萄糖处理，再增加样本加样量V1：如40μL，则试剂二相应减少。则改变后的V1代入公式重新计算。

3.若A1值低于1.2，但 ΔA 差值低于0.01，可增加样本加样量V1:如20μL，则试剂二相应减少。则改变后的V1代入公式重新计算。

4.若A1低于1.0，A2值超过1.8，可以减少样本加样量:如5μL，则试剂二相应增加；或对样本用蒸馏水进行稀释，稀释倍数D代入计算公式计算。

结果计算：

1. 按照血样样本计算：

1-1 计算公式：果糖含量(mg/mL)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3$]÷V1×D=1.1439× $\Delta A \times D$

1-2 计算公式：果糖含量(mg/mL)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3$]÷V1×D1×D=1.1439× $\Delta A \times D1 \times D$

1-3 计算公式：果糖含量(mg/mL)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3$]÷V1×D2×D=1.1439× $\Delta A \times D2 \times D$

ϵ ---NADPH的摩尔消光系数， 6.3×10^3 L/mol/cm；d---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， 2×10^{-4} L；Mr---果糖分子量，180.16；D---所有经过处理或未处理的血样加入比色皿测定时的稀释倍数，未稀释即为1；D1---若取100μL血样除葡萄糖则稀释倍数为200/100=2；若取200μL，则稀释倍数为1.5；D2---若取100mL血样由浑浊变澄清以及除糖则稀释倍数为400/100=4。



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