

## Glucose-1-phosphate Content Assay Kit

### 葡萄糖-1-磷酸(1PG/G1P)含量试剂盒说明书

货号: BN72417 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

#### 一、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  $\text{NADP}^+$  还原成 NADPH, 通过检测 NADPH 在 340nm 处的增加量即可计算出样品中的葡萄糖-1-磷酸 (1PG/G1P) 含量。

#### 二、试剂盒组成和配制:

| 试剂名称 | 规格           | 保存要求    | 备注                                                                                                                                                                             |
|------|--------------|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 提取液  | 液体 100mL×1 瓶 | 4°C保存   |                                                                                                                                                                                |
| 试剂一  | 粉体 mg×1 支    | 4°C保存   | 使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°C保存 | 使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°C分装冻存, 尽量避免反复冻融。                                                                                                                       |
| 试剂三  | 液体 16mL×1 瓶  | 4°C保存   |                                                                                                                                                                                |
| 试剂四  | 粉体 mg×1 支    | -20°C保存 | 使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°C分装冻存, 尽量避免反复冻融。                                                                                                                       |
| 标准品  | 粉剂×1 支       | 4°C保存   | 仅用来鉴定试剂盒中试剂是否正常 (不参与结果计算)。<br>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 $10\mu\text{mol/mL}$ , 再稀释 10 倍成 $1\mu\text{mol/mL}$ 的 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)。 |

#### 三、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/恒温培养箱、冰和蒸馏水。

#### 四、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°C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°C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 ( $10^4$ ): 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℃）或可放在水浴锅（25℃）中孵育 5-15min。
- 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），<br>$\Delta A = (A2 - A1)_{测定} - (A2 - A1)_{空白}$ 。 |     |           |

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；  
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算：

### 1、按样本重量计算：

$$1PG/G1P \text{ 含量}(\mu g/g \text{ 鲜重}) = [(\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6 \times Mr) \div (W \times V1 \div V) \times D] = 836 \times \Delta A \div W \times D$$

### 2、按细胞数量计算：

$$1PG/G1P \text{ 含量}(\mu g/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6 \times Mr) \div (500 \times V1 \div V) \times D] = 1.7 \times \Delta A \times D$$

### 3、按照液体体积计算：

$$1PG/G1P \text{ 含量}(\mu g/mL) = [(\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6 \times Mr) \div V1] = 836 \times \Delta A$$

$\epsilon$ ---NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；

V---加入提取液体积，1 mL；

V2---反应总体积； $0.2 \text{ mL} = 2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ；

Mr---葡萄糖-1-磷酸（1PG/G1P）分子量；260；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

d---96 孔板光径，0.5cm；

V1---加入样本体积，0.02mL；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；