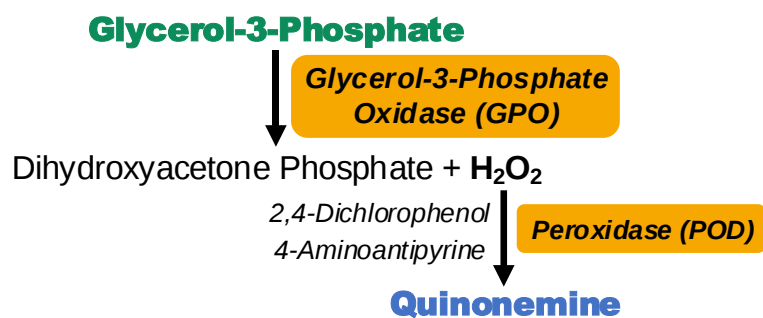




甘油-3-磷酸 (G3P) 含量检测试剂盒
Glycerol-3-Phosphate (G3P) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



甘油-3-磷酸 (G3P) 含量检测试剂盒

Glycerol-3-Phosphate (G3P) Content Assay Kit

一、产品描述

甘油-3-磷酸 (G3P) 是生物体内重要的代谢中间产物, 不仅参与氧化磷酸化和三羧酸循环等能量代谢过程, 还广泛涉及脂质合成、糖异生、氨基酸合成及其他重要生物化学反应, 在维持细胞能量平衡、脂质代谢和信号传导过程中发挥着关键作用。

甘油-3-磷酸在甘油-3-磷酸氧化酶 (GPO) 的催化作用下生成过氧化氢和二羟基丙酮磷酸, 进一步通过过氧化物酶 (POD) 催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚, 生成红色醌类化合物, 产物在 505 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可定量检测甘油-3-磷酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 1.25 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂三	液体 1.7 mL×1 支	4°C 保存	-
试剂四	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	-
标准液	液体 300 µL×1 支	4°C 保存	10 µmol/mL 甘油-3-磷酸标准液
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 10 µmol/mL 甘油-3-磷酸标准液使用蒸馏水稀释 1.0、0.5、0.4、0.2、0.1、0.05 µmol/mL 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (µmol/mL)	10	10	1.0	0.4	0.2	0.1
标准液体积 (µL)	100	50	40	500	500	500
蒸馏水体积 (µL)	900	950	960	500	500	500
稀释后浓度 (µmol/mL)	1.0	0.5	0.4	0.2	0.1	0.05

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清液即为待测样本，置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，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（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清液即为待测样本，置于冰上待测。

③液体样本：吸取 300 μ L 液体样本，加入 700 μ L 提取液充分混匀，沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清液即为待测样本，置于冰上待测。

注：沸水浴处理过程中有离心管崩开风险，注意密封以防止水分散失，推荐使用螺纹盖离心管或冻存管。

2. 测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 505 nm。

②检测工作液的制备（现用现配）：根据使用量按试剂三：试剂四=5:3 体积比配制。

③在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μ L)	标准组 (μ L)	空白组 (μ L)
待测样本	50	-	-
标准稀释液	-	50	-
蒸馏水	-	-	50
试剂一	120	120	120
充分混匀，37℃准确反应 20 min			
试剂二	10	10	10
检测工作液	20	20	20
充分混匀，37℃准确反应 15 min			

吸光值测定：测定 505 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：各浓度标准组（1-6 号管）和空白组只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 1.0、0.5、0.4、0.2、0.1、0.05 μ mol/mL 为横坐标（x），以其对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x（ μ mol/mL）。

3.甘油-3-磷酸（G3P）含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{甘油-3-磷酸含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times D}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}} = \frac{x \times D}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{甘油-3-磷酸含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times D}{W} = \frac{x \times D}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{甘油-3-磷酸含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times D}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{甘油-3-磷酸含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times D}{V_{\text{液}}} = 3.33 \times x \times D$$

注释： V 样总：待测样本总体积，1 mL；V 液：液体样本提取过程中加入液体样本的体积，0.3 mL；Cpr：待测样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①若 A 测定或 ΔA 测定大于 1.5，建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.01，建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

