天净沙系列

CAT#:7-C17181-54-3

低温运输，-20℃保存

天净沙

L-甘油-2-磷酸含量测定试剂盒

Glycerol-2-Phosphate Assay Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品用于测定 L-甘油-2-磷酸（Glycerol-2-Phosphate，G2P，CAS 17181-54-3）含量。其原理是 G2P 的磷酸基团和特异反应物在酶作用下反应生成在 620 nm 处有特征光吸收的物质。以其为测定物，通过检测其吸光度在此波长下的改变即可计算出待测样本中 G2P 含量。本产品具有如下特点：

1. 即开即用，使用便捷，用户不需要优化条件，只需准备待测样本。
2. 提供 G2P 阳性对照，便于在遇到问题时分析原因。
3. 适用于检测从各种样本中提取的，或合成的 G2P。
4. 基于磷酸基团的特异反应进行检测，故待测样本中不得含有其它带磷酸基团的物质，也不得含有在 620 nm 有光吸收的物质。如有上述物质，需预处理去除。如不能去除，则需选用专一性更高的试剂盒。
5. 灵敏度高，最低检测限为 34 μM。
6. 该检测方法不能区分甘油-1-磷酸、甘油-2-磷酸和甘油-3-磷酸。
7. 可以定量，线性范围在 78 μM-2.5 mM 之间。
8. 提供标准曲线法和消光系数法两种操作流程。
9. 足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 400 次 250 μL 体系的 96 孔板检测。
10. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用小扁盒包装

成分	编号	规格	包装
G2P 测定液	7-C17181-54-3rx	10 mL	10 mL 本色瓶
G2P 测定显色液 1	7-C17181-54-3c1	70 mL	125 mL 本色瓶
G2P 测定显色液 2	7-C17181-54-3c2	10 mL	10 mL 棕塑瓶
酶干粉	7-C17181-54-3en	100 T	2.0 mL 红盖管
酶储存液	7-C17181-54-3st	3 mL	5 mL 本色瓶
2.5 mM G2P 标曲液	7-C17181-54-3sd	5 mL	5 mL 本色瓶
使用手册	7-C17181-54-3sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

待测样品，样本溶解液，超纯水，比色皿及与之匹配的分光光度计，96 孔板及与之匹配的分光光度计。

使用方法

一、首次使用本试剂盒时需配制下列溶液。

1. 配制酶溶液：将 2 mL 酶储存液加入到装有酶干粉的管中，颠倒摇晃 20 次溶解，得 2 mL 酶溶液，放冰上待用。剩下的 1 mL 酶储存液也放冰上待用。

2. 如果一次实验没有用完上述溶液，需要放-20℃或更低温度保存，建议分装成小份后保存。

二、制备待测样本

3. 用自备试剂制备待测样品，记下初始样本用量（如 g 数或 mL 数）。

三、标曲制备（以 6 个浓度梯度的标曲液为例）

4. 标记 0-6 号共 7 个 1.5 mL 离心管，并在 0-5 号管中加入 0.7 mL 第 2 步留存的 G2P 测定液，第 6 号管不加 G2P 测定液。
5. 在 6 号管中加入 0.7 mL 试剂盒提供的 2.5 mM G2P 标曲液。
6. 在 5 号管中也加入 0.7 mL 试剂盒提供的 2.5 mM 标曲液，充分震荡 1 分钟，由于管中已经有 0.7 mL 测定液，故得 1.25 mM 标曲液。
7. 在 4 号管中加入 0.7 mL 5 号管标曲液，充分震荡 1 分钟，得 625 μM 标曲液。
8. 在 3 号管中加入 0.7 mL 4 号管标曲液，充分震荡 1 分钟，得 313 μM 标曲液。
9. 重复上面的操作直到得到 1 号管标曲液。0 号管不需要加入 1 号管标曲液，故它只含有在第 5 步加入的 0.7 mL G2P 测定液。最后，0-6 号共 7 个管中 G2P 浓度分别为 0、78 μM、156 μM、313 μM、625 μM、1.25 mM 和 2.5 mM。放冰上待用。
10. 将分光光度计开机，预热 30 分钟后用超纯水调零。在预热期间设置按下表标记 6 个 1.5 mL 反应管并按下表加入各成分：

成分	7 个 G2P 标曲管
G2P 测定液	各 80 μL
7 个 G2P 标曲样本（来于第 9 步）	各 100 μL，1 号样到 1 号管，以此类推
酶溶液（来于第 1 步）	各 20 μL
37℃保温 30 分钟后加入下列成分并快速混匀	
G2P 测定显色液 1	各 700 μL
G2P 测定显色液 2	各 100 μL
混匀后室温静置 10 分钟	

11. 测定每个样本在 620 nm 的光吸收（以下全部简称为 A 值）。
12. 数据处理：将 1-6 号的 A 值分别减去 0 号的 A 值即得各标曲样本的真实 A 值。
13. 绘制标曲：以 1-6 号标曲液 G2P 浓度（单位为μM）为横轴，以每个标曲样本的 A 值为纵轴，绘制标准曲线并得到线性回归方程式 C = a*A + b。C 为标曲液 G2P 浓度（单位为μM），A 为 A 值。
14. 此公式可在后续计算中使用，不需要每次再做标曲，但必须在后续实验中设置 1

个质控点样本随待测样本一起测试。质控点样本的 G2P 浓度必须在上述标的线性范围内，并且最好跟上述 7 个标曲液 G2P 浓度不同。测试后将质控点样本的 A 值代入到上步的方程式得其计算浓度，如果此浓度跟质控点的配制浓度差异在 10%以内，则可以用此公式计算其余待测样本。如果差异大于 10%，则需在测试待测样本时同步制备新的标曲。

四、样本测定

15. 设置反应：在 1.5 mL 离心管中按下表分别加入各成分：

成分	质控点 样本管	N 个待测 样本管
G2P 测定液	80 μL	各 80 μL
质控点样本	各 100 μL	不加
自备 N 个待测样本	不加	各 100 μL
酶溶液（来于第 1 步）	各 20 μL	各 20 μL
37℃保温 30 分钟后加入下列成分		
G2P 测定显色液 1	700 μL	各 700 μL
G2P 测定显色液 2	100 μL	各 100 μL
混匀后室温静置 10 分钟		

16. 测定每个样本在 620 nm 的 A 值。

五、数据处理

17. 计算真实 A 值：将各样本的 A 值减去所对应的无酶对照样本的 A 值，即得各样本的真实 A 值。

18. 将真实 A 值导入到 C = a*A + b 公式中，即可计算出待测样本中 G2P 浓度（单位为μM）。如果计算所得的 G2P 浓度在标曲的线性范围外，则对应的样本需要稀释，直到其测得的浓度在标曲的线性范围内。需要记下稀释倍数 N，在计算浓度时需要乘以稀释倍数。此浓度乘以样本体积即得样本中 G2P 的含量。再根据第 3 步记录的初始样本量即可计算出每 g 或每 mL 样本中 G2P 的含量。

六、96 孔板检测

19. 操作同上，只是在设置反应时，反应总体积为 0.25 mL，各成分的用量需要×25%。

关联产品 L-甘油-3-磷酸含量测定试剂盒