

葡萄糖含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2505

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存

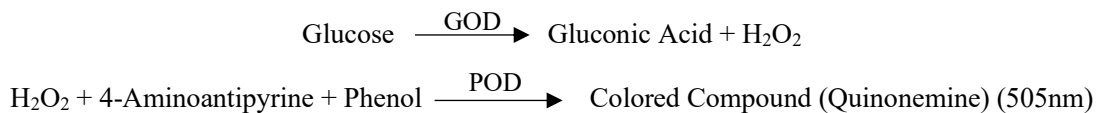
溶液的配制：

- 1、试剂一：2μmol/mL 葡萄糖溶液；
- 2、混合试剂的配制：使用前将试剂二和试剂三 1：1 等体积混合，用多少配多少。

产品说明：

葡萄糖不仅是细胞能量代谢的主要底物，而且其代谢中间产物是生物合成的重要底物。植物可通过光合作用产生葡萄糖。就哺乳动物而言，葡萄糖不仅是大脑神经系统、肌肉、脂肪组织等的唯一能源，而且与还原性辅酶、乳糖和乳脂的合成密切相关。

葡萄糖氧化酶 (Glucose Oxidase, GOD) 催化葡萄糖氧化成葡萄糖酸，并产生过氧化氢；过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚，生成有色化合物，在 505 nm 有特征吸收峰。



技术指标：

最低检出限：0.02 μmol/mL

线性范围：0.03-5 μmol/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、超声破碎仪、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织的处理：按照组织质量 (g)：蒸馏水体积 (mL) 为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 蒸馏水），研磨成匀浆，置沸水浴中煮沸 10 min（盖紧，防止水分散失），冷却至室温后，8000g，25℃离心 10min，取上清液备用。

2. 细菌或细胞处理：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：蒸馏水体积（mL）为 500~1000: 1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 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），置沸水浴中煮沸 10min（盖紧，防止水分散失），冷却后，8000g，25°C离心 10min，取上清液备用。

二、测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，分光光度计用蒸馏水调零。

2、样本测定（在 1.5mL EP 管或 96 孔板中依次加入下列试剂）：

试剂（ μL ）	空白管	标准管	测定管
上清液	-	-	20
试剂一	-	20	-
蒸馏水	20	-	-
混合试剂	180	180	180

涡旋混匀，置于 37°C 水浴锅/恒温培养箱反应 15min 后，于 505nm 波长处读取吸光度 A，分别记为 A 空白、A 标准和 A 测定。计算 ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 空白。（空白管和标准管只需测 1-2 次）。

三、葡萄糖含量计算

1、按样本蛋白浓度计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot})=(C_{\text{标准}}\times V_1)\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}\div(V_1\times C_{\text{pr}})=2\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}\div C_{\text{pr}}$$

2、按样本质量计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/\text{g 质量})=(C_{\text{标准}}\times V_1)\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}\div(W\times V_1\div V_2)=2\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}\div W$$

3、按细菌或细胞数量计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell})=(C_{\text{标准}}\times V_1)\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}\div(5\times V_1\div V_2)=0.4\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}$$

C 标准：标准管浓度， $2\mu\text{mol}/\text{mL}$ ； V_1 ：加入样本体积， $20\mu\text{L}=0.02\text{mL}$ ； V_2 ：样本总体积， 1mL ； C_{pr} ：样本蛋白质浓度， mg/mL ； W ：样本质量， g ；5：细菌或细胞总数（以 10^6 计）， 5×10^6 个。

注意事项：

若（A测定-A空白）小于0.005，建议加大提取样本质量（或细胞数量）或者样本上清液的加入量；（A测定-A空白）大于1.2，将上清液用蒸馏水稀释即可。计算公式中注意乘以稀释倍数。

实验实例：

1. 取0.1g小鼠肝脏加入1mL蒸馏水进行前处理步骤，离心取上清后按测定步骤测定，用96孔板测得吸光值 ΔA 测定=A测定-A空白=0.856-0.051=0.805， ΔA 标准=A标准-A空白=0.724-0.051=0.673。按样本质量计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/\text{g 质量})=2\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}\div W=2\times 0.805\div 0.673\div 0.1=23.923 \mu\text{mol}/\text{g 质量}$$

2. 取0.1g绿萝叶片加入1mL蒸馏水进行前处理步骤，离心取上清后按测定步骤测定，用96孔板测得吸光值 ΔA 测定=A测定-A空白=0.318-0.051=0.267， ΔA 标准=A标准-A空白=0.724-0.051=0.673。按样本质量计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/\text{g 质量})=2\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}\div W=2\times 0.267\div 0.673\div 0.1=7.935 \mu\text{mol}/\text{g 质量}$$

3. 取5百万Jurkat细胞样本加入1mL蒸馏水进行前处理步骤，离心取上清后按测定步骤测定，用96孔板测得吸光值 ΔA 测定=A测定-A空白=0.057-0.051=0.007， ΔA 标准=A标准-A空白=0.724-0.051=0.673。按细胞数量计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell})=0.4\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}=0.4\times 0.007\div 0.673=4.16\times 10^{-3} \mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}$$

相关发表文献：

[1] Meixi Peng, Dan Yang, Yixuan Hou, et al. Intracellular citrate accumulation by oxidized ATM-mediated metabolism reprogramming via PFKP and CS enhances hypoxic breast cancer cell invasion. Cell Death and Disease. March 2019; (IF5.959)

[2] Jing Li, Yabing Duan, Chuanhong Bian, et al. Effects of validamycin in controlling Fusarium head blight caused by Fusarium graminearum: Inhibition of DON biosynthesis and induction of host resistance. Pesticide Biochemistry and Physiology. January 2019; 153:152-160. (IF2.87)

参考文献:

[1] Basagni U, Bonicolini F. Ready to use liquid reagent for determining the glucose content in blood: U.S. Patent 5,077,199[P]. 1991-12-31.

[2] Kabasakalian P, Kalliney S, Westcott A. Enzymatic blood glucose determination by colorimetry of N, N-diethylaniline-4-aminoantipyrine[J]. Clinical chemistry, 1974, 20(5): 606-607.

相关系列产品:

BC0340/BC0345 糖原含量检测试剂盒

BC2540/BC2545 纤维素酶（CL）活性检测试剂盒

BC0330/BC0335 海藻糖含量检测试剂盒

BC2490/BC2495 血糖含量检测试剂盒

