

葡萄糖 (Glucose) 含量 (GPOD 氧化酶法) 检测试剂盒微板法

使用说明书

产品货号: BP10015W

注意: 请在试剂盒保质期内使用, 具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用, 不能用于临床诊断。

检测范围: $0.05-8 \mu\text{mol/mL}$

灵敏度: $0.05 \mu\text{mol/mL}$

有效期: 6 个月

保存温度: $2-8^{\circ}\text{C}/-20^{\circ}\text{C}$

检测原理：

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。葡萄糖氧化酶能催化葡萄糖氧化成葡萄糖酸，并产生过氧化氢；过氧化物酶催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚，生成有色化合物，在 510nm 有特征吸收峰。

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
3. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
4. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

试剂盒组分：

试剂名称	规格（48T/46S）	规格（96T/94S）	保存条件
试剂一(标准品)	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃
试剂三	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃，避光
试剂四	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、恒温箱、水浴锅、蒸馏水。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: $0.05-8 \mu\text{mol/mL}$, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩, 样本稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本**: 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, 95°C 水浴 10 分钟 (盖紧, 防止水分散失), 冷却后, 10000 g , 25°C 离心 10min, 取上清液备用。
4. **细菌或细胞样本**: 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 20% 或 200W, 超声 3S, 间隔 10S, 重复 30 次), 95°C 水浴 10 分钟 (盖紧, 防止水分散失), 冷却后, 10000 g , 25°C 离心 10min, 取上清液备用。
5. **血清 (浆) 等液体样本**: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清测定。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品溶液配制**：取标准品母液（ $5\ \mu\text{mol/mL}$ ） $100\ \mu\text{L}$ 于一新 EP 管，再加入 $900\ \mu\text{L}$ 蒸馏水充分溶解，即 $0.5\ \mu\text{mol/mL}$ 标准品溶液。
3. **试剂四**：临用前将试剂二全部加入试剂四中溶解待用，用不完的试剂 $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存。
4. **混合试剂的配制**：使用前将配好的试剂三和试剂四 1:1 等体积混合，用多少配多少。

操作步骤：

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 510nm。
2. 样本测定（在 96T 孔中依次加入）：

试剂名称(μ L)	空白孔	标准孔	测定孔
蒸馏水	20		
0.5 μ mol/mL 标准品		20	
样本			20
混合试剂	180	180	180

混匀，置 37℃ 烘箱中，保温 15min，在 510nm 波长处读取各孔 OD 值。

注：

1. 标准孔和空白孔只需做一孔。
2. $A_{\text{测定}}$ 大于 4 时，说明样本葡萄糖浓度过高，需要用蒸馏水适当稀释后测定，并且在计算结果中乘以相应稀释倍数。

实验结果结算：

1. 按样本蛋白浓度计算：

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{ mol/mg prot}) = C_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times N = 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times N。$$

2. 按样本鲜重计算：

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{ mol/g 鲜重}) = C_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times V_{1\text{样}} \div V_{2\text{提取}} \times N = 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times N$$

3. 按细菌或细胞密度计算：

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{ mol}/10^4\text{cell}) = C_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div 500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}} \times N = 0.001 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times N$$

4. 血清（浆）中葡萄糖含量计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{ mol/mL}) = C_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div V_{\text{样}} \times N = 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times N$$

注：

$\Delta A_{\text{测定}}$ ：测定孔 OD 值-空白孔 OD 值 $\Delta A_{\text{标准}}$ ：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值

$C_{\text{标准}}$ ：标准品浓度，0.5 $\mu\text{ mol/mL}$ C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL

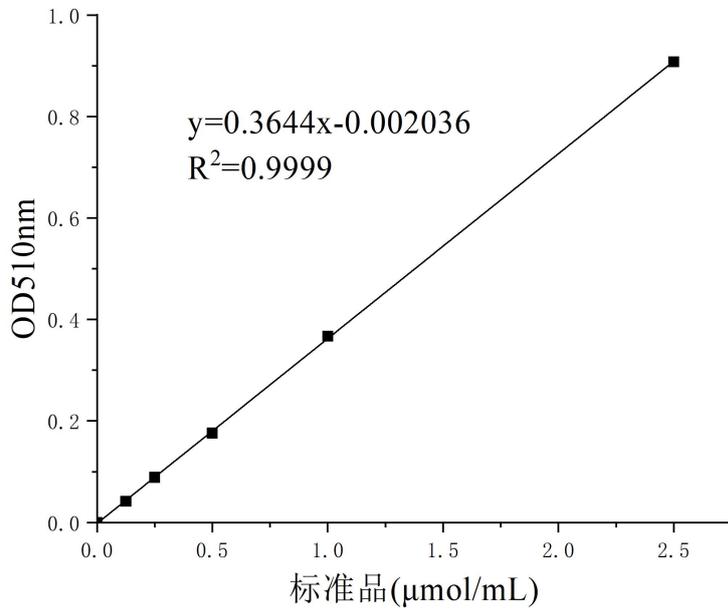
$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1mL W ：样本质量，g

$V_{\text{提取}}$ ：加入提取液体积，1mL 500：细菌或细胞总数，500 万

N ：样本稀释倍数

参考曲线:

$y=0.3644x-0.002036$, $R^2=0.9999$, x 是标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$), y 是 ΔA 。



注意: 标准曲线仅供参考, 用户不用制作。