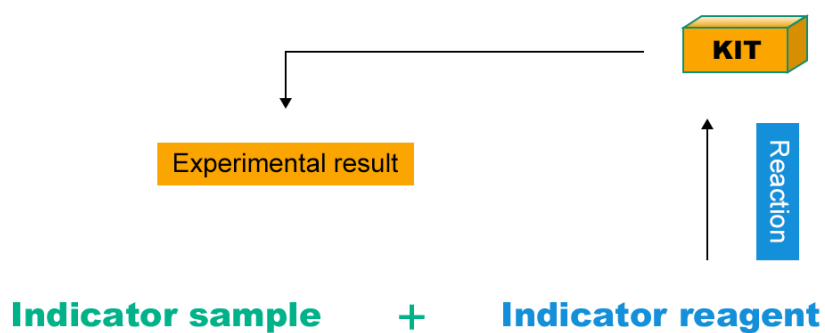


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0418

Size: 100T/96S

葡萄糖含量检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

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。

二、测定原理：

葡萄糖氧化酶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 505 nm 有特征吸收峰。

三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	葡萄糖 9mg×1 支	4℃保存	临用前加入 1ml 蒸馏水充分溶解为 50 μmol/mL 葡萄糖溶液，用蒸馏水稀释为 0.5 μmol/mL 葡萄糖溶液-20℃保存
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	

五、操作步骤：

1. 葡萄糖提取：

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，95℃水浴 10 分钟（盖紧，防止水分散失），冷却后，8000g，25℃离心 10min，取上清液备用。

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 20%或 200W，超声 3S，间隔 10S，重复 30 次），95℃水浴 10 分钟（盖紧，防止水分散失），冷却后，8000g，25℃离心 10min，取上清液备用。

2. 测定步骤：

- (1) 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。
- (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。
- (3) 加样表（在 EP 管/96 孔板中加入下列试剂）：

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

混匀，置 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴中，保温 15min，于 505nm 波长处读取吸光度。空白管、标准管和测定管吸光值分别记为 A1、A2 和 A3。空白管和标准管只要做一管。

六、葡萄糖含量计算：

1. 按样本蛋白浓度计算

$$\text{葡萄糖含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (V_1 \times C_{\text{pr}})$$

$$= 0.5 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div C_{\text{pr}}。$$

2. 按样本鲜重计算

$$\text{葡萄糖含量} (\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (W \times V_1 \div V_2)$$

$$= 0.5 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div W$$

3. 按细菌或细胞密度计算

$$\text{葡萄糖含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (500 \times V_1 \div V_2)$$

$$= 0.001 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1)$$

C 标准：标准管浓度，0.5 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ；V1：加入样本体积，0.1mL；V2：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

注意：最低检测限为 50nmol/g 鲜重或 0.5nmol/mg prot