

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-S0696

Size: 50T/48S

葡萄糖含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*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、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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 5 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 25mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 25mL×1 瓶	4℃保存	

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。

五、操作步骤：

1. 葡萄糖提取：

- (1) 组织的处理：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 蒸馏水研磨成匀浆，置沸水浴中煮沸 10 分钟（盖紧，防止水分散失）冷却后，8000g，常温离心 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 20%或 200W，超声 3S，间隔 10S，重复 30 次），置沸水浴中煮沸 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. 测定操作表：

- (1) 分光光度计预热 30min。波长调至 505nm，蒸馏水调零。
- (2) 在 1.5mL 离心管中依次加入下列试剂：

试剂 (μL)	空白管	标准管	测定管
样本			100
试剂一		100	
蒸馏水	100		
混合试剂	900	900	900

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。

六、葡萄糖含量计算：

1. 按蛋白浓度计算

葡萄糖含量 ($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$) = $C \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}})$ = $0.5 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div C_{\text{pr}}$

2. 按样本鲜重计算

葡萄糖含量 ($\mu\text{mol/g}$ 鲜重) = $C \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) = 0.5 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div W$

3. 按细菌或细胞数量计算

葡萄糖含量 ($\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}$) = $C \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{样}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) = 0.001 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})$

C: 葡萄糖溶液浓度, $0.5 \mu\text{mol/mL}$; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL ; V 样: 加入的样本体积, $100 \mu\text{L} = 0.1 \text{ mL}$; V 样总: 样本总体积, 1 mL ; W: 样本鲜重, g; 500: 细菌或细胞数量, 500 万。若 A 测定管大于 1.5, 稀释后进行实验。