

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

葡萄糖含量试剂盒说明书

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

产品内容：

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	-

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。

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。

操作步骤：

一、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 (10⁴ 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。

二、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°C （哺乳动物）或 25°C （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。三、

葡萄糖含量计算：

1、按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= (\text{C标准} \times V1) \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div (V1 \times \text{Cpr}) \\ &= 0.5 \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div \text{Cpr}。 \end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算

$$\begin{aligned} \text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) &= (\text{C标准} \times V1) \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div (W \times V1 \div V2) \\ &= 0.5 \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div W \end{aligned}$$

3、按细菌或细胞密度计算

$$\begin{aligned} \text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= (\text{C标准} \times V1) \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div (500 \times V1 \div V2) \\ &= 0.001 \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \end{aligned}$$

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 $50\text{nmol}/\text{g}$ 鲜重或 $0.5\text{nmol}/\text{mg prot}$