

葡萄糖含量检测试剂盒（微量法）

（本试剂盒仅供科研使用）

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0433	葡萄糖含量检测试剂盒	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	葡萄糖 9mg×1 支：临用前加入 1mL 蒸馏水充分溶解为 50μmol/mL 葡萄糖溶液，用蒸馏水稀释为 0.5μmol/mL 葡萄糖溶液 -20℃ 保存。	4℃
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃
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。		

一、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。

二、自备材料

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。

三、样本准备：

- 1、组织：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。
- 2、细菌/真菌：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。

四、操作步骤

正式测定前，必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。
- 2、加样表（使用 1.5mL 离心管或 96 孔板）

试剂名称 (μL)	空白管	标准管	测定管
样品			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。

五、葡萄糖含量的计算

1、按照样本蛋白质浓度质量计算

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

$$= 0.5 \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div \text{Cpr}。$$

2、按照样本鲜重计算

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

$$= 0.5 \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div W。$$

3、按照细菌或细胞密度计算

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

$$= 0.001 \times (A3 - A1) \div (A2 - A1)$$

C 标准: 标准管浓度, 0.5μmol/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。

六、注意事项

- 1、最低检出限为 50nmol/g 鲜重或 0.5nmol/mg prot。