

葡萄糖含量检测试剂盒说明书

(货号：ADS-F-TDX040-50 分光法 48 样)

有效期：3 个月

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。

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。

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

试剂的组成和配制：

试剂一：0.5μmol/mL 葡萄糖溶液 10mL×1 瓶，4℃ 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等比混合，用多少配多少。

葡萄糖提取：

1、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。

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 (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。

3、液体样本：澄清的液体样本直接检测，若浑浊则需 8000g，25℃ 离心 10min，取上清液备用。

测定步骤和加样表（在 1.5mLEP 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。

葡萄糖含量计算：

1、按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= (\text{C 标准} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (V_1 \times \text{Cpr}) \\ &= 0.5 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

2、按样本鲜重计算

$$\begin{aligned}\text{葡萄糖含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) &= (\text{C 标准} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (W \times V_1 \div V_2) \\ &= 0.5 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div W\end{aligned}$$

3、按细菌或细胞密度计算

$$\begin{aligned}\text{葡萄糖含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= (\text{C 标准} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (500 \times V_1 \div V_2) \\ &= 0.001 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1)\end{aligned}$$

4、按液体体积计算

$$\begin{aligned}\text{葡萄糖含量} (\mu\text{mol/ml}) &= (\text{C 标准} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div V_1 \\ &= 0.5 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1)\end{aligned}$$

C 标准: 标准管浓度, 0.5 $\mu\text{mol/ml}$; V1: 加入样本体积, 0.02mL; 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。