

葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 微板法)

产品简介

葡萄糖(Glucose, Dextrose, Glu)又称玉米葡糖, 简称葡糖, 化学式 $C_6H_{12}O_6$, 分子量为 180.16, 是自然界分布最广、最重要的一种单糖, 属于多羟基醛, 用酶学方法测定葡萄糖是生化检测中的常用方法, 最常用的有葡萄糖氧化酶法、己糖激酶法, 上述酶学法特点是:

1、灵敏度、准确度、精密度均高; 2、使用温和的反应条件; 3、对葡萄糖有专一性, 不受其他糖及还原物的干扰; 4、操作简便; 5、适用于自动分析仪。

葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 微板法)又称葡萄糖氧化酶法或葡萄糖氧化酶-过氧化物酶偶联法等, 其检测原理是在葡萄糖氧化酶的催化下葡萄糖被氧化成葡萄糖酸, 同时消耗溶液中的氧, 产生的过氧化氢与氧化色原物质反应生成红色的醌类化合物, 初始反应中过氧化氢的生成量与葡萄糖浓度成正比, 酶标仪 505nm 进行比色测定, 用于人或动物的血清、血浆、脑脊液细胞、组织等样本中的葡萄糖含量定量测定, 但不宜直接检测尿液中的葡萄糖含量, 其中 Glu 标准(5mmol/L)=90mg/dl。该试剂盒仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称		编号	ADS076TC0	ADS076TC1	Storage
			200T	500T	
试剂(A): 酚试剂			30ml	75ml	RT 避光
试剂(B): 酶试剂	磷酸盐、4-AAP、 GOD、POD		30ml	75ml	4°C 避光
临用前, 按酚试剂: 酶试剂=1: 1 混匀, 即 GOD-POD 工作液, 4°C 保存。					
试剂(C): Glu 标准(5mmol/L)			1ml	1ml	4°C
试剂(D): ddH ₂ O			1ml	1ml	RT
使用说明书			1 份		

自备材料

- 1、生理盐水或 PBS
- 2、离心管或 96 孔板、匀浆机、离心机、水浴锅或恒温箱、分光光度计、酶标仪、全自动或半自动生化分析仪

操作步骤(仅供参考)

1、样本处理:

①血清、血浆、脑脊液样品: 从待测样品中分离出的血清或血浆不应有溶血, 直接测定,

如超过线性范围(30mmol/L), 用生理盐水或 PBS 稀释后测定。

②细胞样品:

- a. 取适量的细胞(一般推荐 $> 10^6$ 以上), 1000g 离心 10min, 弃上清, 留取沉淀。
- b. 用 PBS 或生理盐水清洗 1~2 次, 1000g 离心 10min, 弃上清, 留取沉淀。
- c. 加入 200~300 μ l 的 PBS 或生理盐水匀浆, 冰浴条件下超声破碎细胞, 功率 300W, 每次 3~5s, 间隔 30s, 重复 3~5 次, 亦可手动匀浆, 制备好的匀浆液不可离心; 亦可用 1~2% Triton X-100 冰浴 30~60min, 制备好的裂解液不可离心。

③组织样品: 准确称取适量组织样品, 按质量(g): 生理盐水或 PBS(ml)=1: 9 的比例, 加入生理盐水或 PBS, 冰浴条件下手动或机械匀浆, 2500~3000g 离心 10min, 取上清。

2、Glu 测定:

酶标仪、全自动生化分析仪 Glu 测定			
加入物(μ l)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH ₂ O	3	—	—
Glu 标准(5mmol/L)	—	3	—
待测样品	—	—	3
GOD-POD 工作液	300	300	300
分光光度计(1ml 比色杯)、半自动生化分析仪 Glu 测定			
加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
ddH ₂ O	0.01	—	—
Glu 标准(5mmol/L)	—	0.01	—
待测样品	—	—	0.01
GOD-POD 工作液	1	1	1

普通分光光度计(2ml 比色杯)Glu 测定			
加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
ddH ₂ O	0.02	—	—
Glu 标准(5mmol/L)	—	0.02	—
待测样品	—	—	0.02
GOD-POD 工作液	2	2	2

①各种仪器按上表依次加入试剂。

②充分混匀, 37°C水浴中孵育 15min。

③立即用相应仪器测定 505nm 处吸光度, 以空白孔(管)调零, 读取标准孔(管)、测定孔(管)的吸光度, 分别记为 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。

机器参数:

主波长	505nm
反应类型	终点法
反应方向	升反应(+)

计算: $Glu(\text{mmol/L}) = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 5$

参考区间: 健康成年人空腹葡萄糖: 3.9~6.1mmol/L(70~110mg/dl)

备注: Glu 标准(5mmol/L)=90mg/dl

性能指标

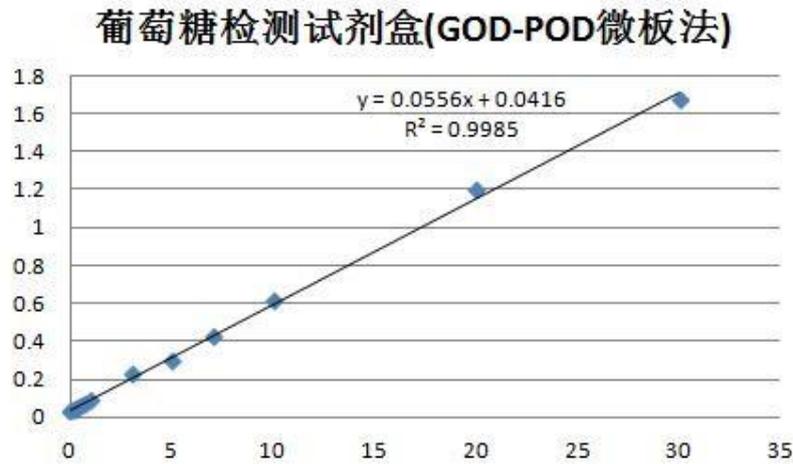
外观	无色至淡黄色澄清液体
线性范围	0~30mmol/L, $r > 0.990$
变异系数	批内 $< 2 \sim 5\%$, 批间 $< 5\%$
空白吸光值	< 0.2 (1cm 光径)
稳定性	密闭, 6 个月

注意事项

- 1、配制好的 GOD-POD 工作液, 4°C 避光保存, 1 月有效, 低温试剂避免反复冻融, 以免失效或效率下降。
- 2、测定标本用血清或以草酸钾-氟化钠抗凝的血浆(可抑制葡萄糖的分解), 可直接用于检测脑脊液中的葡萄糖含量, 待测样品如不能及时测定应置于 2~8°C 保存, 3 天内稳定。
- 3、尿葡萄糖目前多采用此法进行定量测定, 但不能直接检测, 需先用班氏法对尿液样品做半定量试验, 按测出的大概含量, 用蒸馏水稀释尿液使葡萄糖含量在 3mg/ml 以下, 再进行检测, 计算结果乘以稀释倍数即可; 因为未经处理的尿液中尿酸等还原性物质的浓度较高, 影响过氧化物酶反应, 可能会造成结果假性偏低。
- 4、随着时间的延长, 低浓度样品亦会显红色, 所以 15min 后应及时检测, 时间不宜过久。
- 5、采用酶标仪未调零情况下空白参考范围在 0.04~0.09 之间, 5mmol/L 标准参考范围在 0.25~0.45 之间, 由于仪器设备、操作方法等不同, 参考范围会有差异。
- 6、该试剂盒测定下限为 0.1mmol/L, 测定上限为 30mmol/L; 以肉眼观察, 浓度 $\leq 0.6\text{mmol/L}$ 几乎呈无色, 浓度在 0.7mmol/L 即可显淡红色, 浓度 $\geq 2.5\text{mmol/L}$ 可显红色, 一般情况下接近上限比接近下限更准确。
- 7、本法线性范围可达 30mmol/L, 如果样品葡萄糖浓度过高, 结果可能呈假性降低, 应用生理盐水或 PBS 等稀释后重测, 结果乘以稀释倍数。
- 8、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。

有效期：12个月。低温运输，按要求保存。

附录：参考标准曲线范围：测定葡萄糖标准在 0.1、0.2、0.3、0.5、0.7、1、3、5、7、10、20、30、40、50mmol/L 时吸光度，据此 作出其标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算 Glu 含量的，可以采用标准曲线进行多点测定；根据测定经验显示，标准品浓度在 0.1mmol/L 以下，30mmol/L 以上，标准曲线会有偏差。