

葡萄糖(Glucose)含量(GOPOD 氧化酶法)检测试剂盒说明书

(货号:ADS-W-TDX002-196 微板法 196 样)

一、产品简介:

葡萄糖 ($C_6H_{12}O_6$, FW: 180.16), 是产生能量分子ATP的主要来源。本试剂盒提供一种定量、快速、简单、灵敏的检测方法, 葡萄糖被特异性氧化以产生与显色剂反应的(粉)红色产物, 该产物在520nm有最大吸收峰, 进而得到葡萄糖含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉体 1 瓶	-20°C保存	临用前加 4.2mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 36mL×1 瓶	4°C保存	
标准管	粉体 1 支	室温干燥保存	用前准确称取 2mg 粉体即葡萄糖至一新 EP 管中, 再加 2mL 蒸馏水充分溶解即得 1mg/mL 标准品, 待用。(该标准品粉体开封后也需干燥保存和使用)

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、移液器、研钵、离心机、蒸馏水。

四、葡萄糖含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- ① 组织样本: 0.1g 组织样本(水分充足的样本建议取 0.2g 左右), 加 1mL 的蒸馏水研磨, 粗提液全部转移到 EP 管中, 12000rpm, 常温离心 10min, 上清液待测。
- ② 细胞样本: 先收集细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细胞加入 1mL 蒸馏水或 PBS 或生理盐水, 超声波破碎细胞(冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细胞数量(10^4): 提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

- ③ 液体样品: 澄清的液体样本直接检测, 若浑浊则需离心后取上清液测定。

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min, 设置温度在 25°C, 设定波长到 520nm。
- ② 做实验前选取 2 个样本, 找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。如: 果实类样本, 需稀释 5-10 倍。
- ③ 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μ L)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	10		
蒸馏水		10	
标准品			10
试剂一	20	20	20
试剂二	170	170	170
混匀, 37°C避光反应 30min, 520nm 下读取吸光值 A, ΔA 葡萄糖=A 测定-A 空白。			

【注】: 1.若待检测样本有强背景色(如粉色, 红色等), 需做一个样本自身对照: 即 10 μ L 样本+20 μ L 蒸

馏水+170 μ L 试剂二, 37 $^{\circ}$ C避光反应 30min, 520nm 下读取吸光值 A, ΔA 葡萄糖=A 测定-A 对照。

2.测定管的 A 值若超过 1.5, 可把样本用蒸馏水进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

3.若 ΔA 小于 0.01, 可增加样本加样体积 V1 (如由 10 μ L 增至 20 或 50 μ L 或更多, 则试剂二相应减少), 空白管和标准管保持不变; 或增加样本取样质量 W 或细胞取样数量。则改变后的 V1 和 W 和细胞数量需代入计算公式重新计算。

五、结果计算:

1、按照质量计算:

$$\begin{aligned} \text{葡萄糖含量(mg/g 鲜重)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D \end{aligned}$$

2、按照细胞数量计算:

$$\begin{aligned} \text{葡萄糖含量(mg/10}^4 \text{ cell)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div 500 \times D \end{aligned}$$

3、按照体积计算:

$$\begin{aligned} \text{葡萄糖含量(mg/mL)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V1 \times D \\ &= \Delta A \text{ 葡萄糖} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D \end{aligned}$$

C 标准---葡萄糖标准品的浓度, 1mg/mL;

V---加入提取液体积, 1mL;

W---样本鲜重, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

V1---加入样本体积, 0.01mL;

500---细胞数量, 万。