

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 有效期: 9 个月)

一、指标介绍:

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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	粉体 1 瓶	-20℃避光保存	1. 临用前加 4.2mL 的蒸馏水溶解备用; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	液体 36mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准管	粉体 1 支	室温干燥保存	1. 用前准确称取 2mg 粉体即葡萄糖至一新 EP 管中; 2. 加入 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); 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。

三、实验器材:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

四、葡萄糖含量检测:

建议先选取 1-3 个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

- 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℃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、检测步骤:

- ① 酶标仪预热 30min, 设置温度在 25℃, 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:

试剂组分 (μL)	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℃避光反应 30min，520nm 下读取吸光值 A， $\Delta A \text{ 葡萄糖} = A \text{ 测定} - A \text{ 空白}$ 。			

- 【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℃避光反应 30min，520nm 下读取吸光值 A， $\Delta A \text{ 葡萄糖} = A \text{ 测定} - A \text{ 对照}$ 。
- 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：

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

2、按照细胞数量计算：

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

3、按照体积计算：

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

C 标准---葡萄糖标准品的浓度，1mg/mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.01mL；

W---样本鲜重，g；

500---细胞数量，万。