

葡萄糖含量测定试剂盒(GOPOD 氧化酶法) 微板法

货号：CSP174 规格：96T

产品简介：

葡萄糖不仅是细胞能量代谢的主要底物，还是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。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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂A	粉末×1 瓶	-20℃保存	临用前加 2.1mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂B	液体 18mL×1 瓶	4℃保存	
标准管C	粉末×1 支	室温干燥保存	临用前准确称取 2mg 标准管粉体（葡萄糖）至新的离心管中，然后向离心管中加 2mL 蒸馏水溶解，即得 1mg/mL 葡萄糖溶液。

使用方法：

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费。

一、样本准备：

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；
- 粗提液全部转移到离心管中，12000rpm，常温离心 10min，上清液待测。

2. 细胞样本：

- 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，可按照每 $0.5\sim 1\times 10^7$ 个细胞加入 1mL 提取液进行提取。

二、样品测定：

- 酶标仪预热 30min，设置温度在 25℃，调节波长到 520 nm。
- 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
- 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (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°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 μL 样本+20 μL 蒸馏水+170 μL 试剂二, 37°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, 可增加样本体积 V1 (如由 10 μL 增至 20 或 50 μL 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 以及细胞数量需代入计算公式重新计算。

三、结果计算方式

1、按照质量计算:

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

2、按照细胞数量计算:

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

3、按照体积计算:

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

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

注意事项:

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 仅供科研使用
- 2、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

保质期:

-20°C保存三个月。