

葡萄糖含量检测试剂盒说明书

Glucose Assay Kit

微量法

货号：AK217

规格：100T/96S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK217-A	2 μ mol/mL 葡萄糖溶液 10mL \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存；
AK217-B	液体 10ml \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存；
AK217-C	液体 10ml \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存；
工作液的配制：使用前将 AK217-B 和 AK217-C 按 1:1 等体积混合，用多少配多少。		

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

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。哺乳动物血液中的葡萄糖称为血糖，是其体内糖的主要运输形式；血糖浓度受神经系统和激素的调节而保持相对稳定，调节失衡时出现高血糖和低血糖；糖尿病、颅内压增加和脱水症等均可引起高血糖；饭后，精神紧张也可出现生理性高血糖；相反，胰岛 β 细胞增生或肿瘤等，垂体、肾上腺皮质和甲状腺功能减退，以及严重肝病患者均可出现低血糖症状；此外，饥饿和剧烈运动可引起暂时的低血糖。

原理：葡萄糖氧化酶能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 505nm 有特征吸收峰，强度与原始葡萄糖浓度成正比。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、水浴锅、天平、离心机、可调式移液枪、蒸馏水。

使用说明：

一. 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，沸水浴中煮沸 10 分钟 (盖紧，防止水分散失)，冷却后，8000g，常温离心 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 (10^4 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)，沸水浴中煮沸 10 分钟 (盖紧，防止水分散失)，冷却后，8000g，25 $^{\circ}$ C 离心 10min，取上清液备用。
3. 血清 (浆)：直接测定。

二. 测定步骤：

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。
2. 工作液的配制：使用前将 AK217-B 和 AK217-C 等体积混合，用多少配多少。

3. 在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂：

试剂名称	空白管(ul)	标准管(ul)	测定管(ul)
样本			20
AK217-A		20	
蒸馏水	20		
工作液	180	180	180

混匀，置 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）保温 15min 后，于 505nm 波长处读取吸光度；空白管、标准管和测定管吸光值分别记为 A1、A2 和 A3。
注：空白管和标准管只需做 1-2 次

葡萄糖/血糖含量计算：

1. 按样本蛋白浓度计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = (\text{C 标准} \times V1) \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div (V1 \times \text{Cpr}) = 2 \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) = (\text{C 标准} \times V1) \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div (W \times V1 \div V2) = 2 \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div W$$

3. 按细菌或细胞密度计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = (\text{C 标准} \times V1) \times (A3 - A1) \div (A2 - A1) \div (500 \times V1 \div V2) = 0.004 \times (A3 - A1) \div (A2 - A1)$$

4. 血糖含量 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$) = C 标准 $\times (A3 - A1) \div (A2 - A1) = 2 \times (A3 - A1) \div (A2 - A1)$

C 标准：标准管浓度，2 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ；V1：加入样本体积，20 μL =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。