

葡萄糖含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHD7-C48	植物葡萄糖含量试剂盒	48T	常量法

产品说明:

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。

葡萄糖氧化酶（Glucose Oxidase, GOD）催化葡萄糖氧化成葡萄糖酸，并产生过氧化氢；过氧化物酶（Peroxidase, POD）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505 nm 有特征吸收峰。

试剂组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 25 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 25 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制:

- 1、试剂一：1 μ mol/mL 葡萄糖溶液；
- 2、混合试剂的配制：使用前将试剂二和试剂三 1:1 等体积混合，用多少配多少。

操作步骤:

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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，置沸水浴中煮沸 10 min（盖紧，防止水分散失），冷却至室温后，8000g，25℃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200W，超声3 s，间隔10 s，重复30次），置沸水浴中煮沸10min（盖紧，防止水分散失），冷却至室温后，8000g，25℃离心10min，取上清液备用。

二、测定步骤

1、分光光度计预热30min 以上，调节波长至505nm，蒸馏水调零。

2、样本测定（在 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂 (μL)	空白管	标准管	测定管
上清液	-	-	100
试剂一	-	100	-
蒸馏水	100	-	-
混合试剂	900	900	900

涡旋混匀，置于 37℃水浴锅/恒温培养箱反应 15min 后，于 505nm 波长处读取吸光度A，分别记为A 空白、A 标准和A 测定。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。（空白管和标准管只需测 1-2 次）。

三、葡萄糖含量计算

1、按蛋白浓度计算

$$\text{葡萄糖含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = C \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \div (C_{pr} \times V_{样}) = \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr}$$

2、按样本质量计算

$$\text{葡萄糖含量} (\mu\text{mol}/\text{g 质量}) = C \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \div (W \div V_{样总} \times V_{样}) = \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W$$

3、按细菌或细胞数量计算

$$\text{葡萄糖含量} (\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = C \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \div (5 \div V_{样总} \times V_{样}) = 0.2 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}$$

C：葡萄糖溶液浓度，1μmol/mL；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；V_样：加入的样本体积，100μL=0.1mL；V_{样总}：样本总体积，1mL；W：样本质量，g；5：细菌或细胞数量（以 10⁶ 计），5×10⁶ 个。

注意事项：

若（A_{测定}-A_{空白}）小于0.005，建议加大提取样本质量（或细胞数量）或者样本上清液的加入量；（A_{测定}-A

空白）大于 1.5，将上清液用蒸馏水稀释即可。计算公式中注意乘以稀释倍数。