

葡萄糖 (Glucose) 含量 (GOPOD 氧化酶法) 检测试剂盒 微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号: JL-T1042

有效期: 6个月

规格: 48T(46S)/96T(94S)

保存温度: 2-8°C和-20°C

咨询电话: 400-0066-400

网址: www.jonln.com

实验原理：

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。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 510nm 有特征吸收峰。

检测范围： 0.05-8 μ mol/mL， **灵敏度：** 0.05 μ mol/mL

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
3. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
4. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成:

试剂名称	规格 (48T/46S)	规格 (96T/94S)	保存条件
试剂一 (标准品)	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃
试剂三	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃, 避光
试剂四	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、可调式移液器、恒温箱、水浴锅、蒸馏水。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.05-8 μ mol/mL，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本**：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，95 $^{\circ}$ C水浴 10 分钟 (盖紧，防止水分散失)，冷却后，10000 g，25 $^{\circ}$ C离心 10min，取上清液备用。
4. **细菌或细胞样本**：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)，95 $^{\circ}$ C水浴 10 分钟 (盖紧，防止水分散失)，冷却后，10000 g，25 $^{\circ}$ C离心 10min，取上清液备用。
5. **血清 (浆) 等液体样本**：直接检测。若浑浊，离心后取上清测定。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品溶液配制**：取标准品母液（ $5\mu\text{mol/mL}$ ） $100\mu\text{L}$ 于一新 EP 管，再加入 $900\mu\text{L}$ 蒸馏水充分溶解，即 $0.5\mu\text{mol/mL}$ 标准品溶液。
3. **试剂四**：临用前将试剂二全部加入试剂四中溶解待用，用不完的试剂 $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存。
4. **混合试剂的配制**：使用前将配好的试剂三和试剂四 1:1 等体积混合，用多少配多少。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 510nm 。
2. **样本测定（在 96T 孔中依次加入）**：

试剂名称(μL)	空白孔	标准孔	测定孔
蒸馏水	20		
$0.5\mu\text{mol/mL}$ 标准品		20	
样本			20
混合试剂	180	180	180

混匀，置 37°C 烘箱中，保温 15min，在 510nm 波长处读取各孔 OD 值。

注：

1. 标准孔和空白孔只需做一孔。
2. $A_{\text{测定}}$ 大于 4 时，说明样本葡萄糖浓度过高，需要用蒸馏水适当稀释后测定，并且在计算结果中乘以相应稀释倍数。

咨询电话：400-0066-400

网址：www.jonln.com

实验结果结算:

1. 按样本蛋白浓度计算:

葡萄糖含量($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$)= $C_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times N = 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{Cpr} \times N$ 。

2. 按样本鲜重计算:

葡萄糖含量 ($\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}$) = $C_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times V_{1\text{样}} \div V_{2\text{提取}} \times N = 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times N$

3. 按细菌或细胞密度计算:

葡萄糖含量 ($\mu\text{mol}/10^4\text{cell}$) = $C_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div 500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}} \times N = 0.001 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times N$

4. 血清 (浆) 中葡萄糖含量计算

葡萄糖含量 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$) = $C_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div V_{\text{样}} \times N = 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times N$

注:

$\Delta A_{\text{测定}}$: 测定孔 OD 值-空白孔 OD 值 $\Delta A_{\text{标准}}$: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值

$C_{\text{标准}}$: 标准品浓度, $0.5\mu\text{mol}/\text{mL}$ Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL W: 样本质量, g

$V_{\text{提取}}$: 加入提取液体积, 1mL 500: 细菌或细胞总数, 500 万

N: 样本稀释倍数

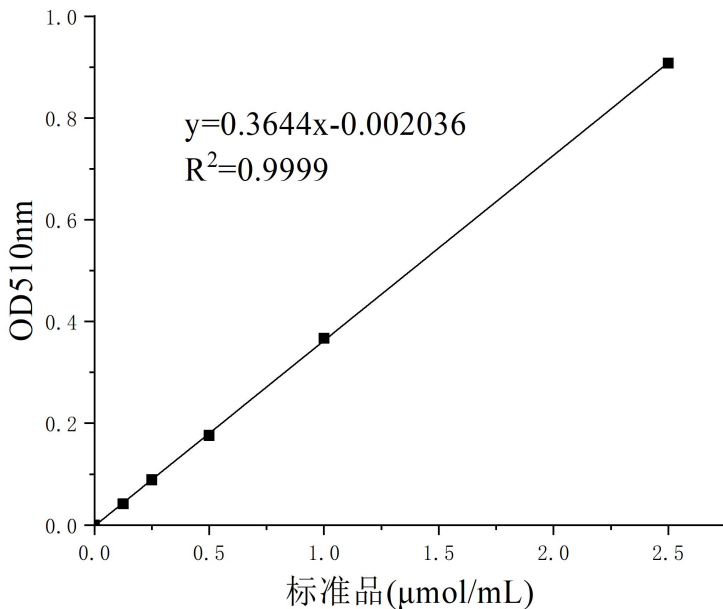
参考样本数据:

以下数据仅供参考:

样本类型	稀释倍数	参考值
人血清	5 倍稀释	3.378 μ mol/mL
大鼠血清	5 倍稀释	3.324 μ mol/mL

参考曲线:

$y=0.3644x-0.002036$, $R^2=0.9999$, x 是标准品浓度 (μ mol/mL) , y 是 ΔA 。



注意: 标准曲线仅供参考, 用户不用制作。

咨询电话: 400-0066-400

网址: www.jonln.com

咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjls@163.com

网 址：www.jonln.com