

## 葡萄糖 (Glucose) 含量 (己糖激酶法) 检测试剂盒说明书

(货号: G0542W 微板法 96 样)

### 一、产品简介:

葡萄糖 (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>), 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, 葡萄糖在己糖激酶等酶复合物作用下, 使NADPH的量不断增加, 通过检测340nm下该物质的增加量, 进而计算得到葡萄糖含量。

### 二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂×1 支	-20℃保存	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水备用
试剂二	25mL 液体×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂×1 支	-20℃保存	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水备用

### 三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、移液器、研钵、水浴锅、离心机、蒸馏水。

### 四、葡萄糖含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

#### 1、样本制备:

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 EP 管中, 12000rpm, 常温离心 10min, 上清液待测。

【注】: A. 做实验前可以选取几个样本, 找出适合本次检测样本的稀释倍数 D, 果实样本含糖量较高, 可稀释 20-40 倍; 叶片样本可稀释 2-5 倍。

B. 若离心后的上清液 (高脂或高蛋白样本如动物组织等) 比较浑浊, 可取出上清液转移至新 EP 管中再次或多次离心后取上清液测定; 也可取上清液于 95℃ 孵育 5-10min 后离心取上清液测定。

② 细胞/菌类样本: 先收集细胞或细菌到离心管内, 离心弃上清; 取 500 万细菌或细胞加入 1mL 蒸馏水; 冰浴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); 12000rpm, 常温离心 10min, 取上清液待测。

【注】: 也可按照细菌或细胞数量 (10<sup>4</sup> 个): 提取液体积 (mL) 为 500-1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样品: 近似中性的澄清液体样本可直接检测; 若为酸性样本则需先用 NaOH(2M) 调 PH 值约 7.4, 然后室温静置 30min, 取澄清液体直接检测。

【注】可选取几个样本, 进行不同倍数的稀释, 选取适合本次样本的稀释倍数 D。

#### 2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min, 设置温度在 25℃, 设定波长到 340nm。

② 试剂解冻至室温 (25℃), 或可放在 25℃ 条件下水浴 5-15min。

③ 试剂一和二可按照 10:160 比例配成混合液 (一枪加 170μL 该混合液) (该混合液用多少配多少, 现配现用)。

④ 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	
试剂一	10	10
试剂二	160	170
混匀, 室温 (25°C) 下, 5min后于340nm处读取各管A1值		
试剂三	10	10
混匀, 室温 (25°C) 下, 反应20min后于340nm处读取各管的A2值 (若A值继续增加, 需延长反应时间, 直至2分钟内变化值在0.1内), $\Delta A = (A2 - A1)_{测定} - (A2 - A1)_{空白}$ 。		

- 【注】1. 检测反应20min后是否反应完全, 在准备读值时可改用时间扫描: 3min, 间隔1min, 依此判读反应是否完全。然后再读取各测定管的A值。  
2. 若A2值超过1.5, 可以减少样本加样量: 如5μL, 则试剂二相应增加; 或对样本进行稀释, 稀释倍数D代入计算公式计算。  
3. 若 $\Delta A$ 小于0.01, 可增加样本量: 如30μL, s则试剂二相应减少。

## 五、结果计算:

### 1、按照质量计算:

$$\text{葡萄糖含量(mg/g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \times D = 1.1439 \times \Delta A \div W \times D$$

### 2、按照细胞数量计算:

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{g}/10^4\text{cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 1143.9 \times \Delta A \div 500 \times D$$

### 3、按照体积计算:

$$\text{葡萄糖含量(mg/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^3] \div V1 \times D = 1.1439 \times \Delta A \times D$$

$\epsilon$  --- NADPH 的摩尔消光系数,  $6.3 \times 10^3$  L/mol/cm;

d --- 0.5cm;

V --- 加入提取液体积, 1mL;

V1 --- 加入样本体积, 0.01mL;

V2 --- 反应总体积,  $2 \times 10^{-4}$  L;

Mr --- 葡萄糖分子量, 180.16;

W --- 样本鲜重, g;

500-细胞数量, 万;

D --- 稀释倍数, 未稀释即为 1。