

Glucose Content Kit

葡萄糖含量（己糖激酶法）检测试剂盒说明书

货号：G0542W | 方法：微板法 | 规格：96 样

一、产品简介：

葡萄糖 (C₆H₁₂O₆)，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 (10⁴ 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), $\Delta A = (A2 - A1)_{测定} - (A2 - A1)_{空白}$ 。		

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

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:

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

ϵ ---NADPH 的摩尔消光系数, 6.3×10^3 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, 2×10^{-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。