

葡萄糖含量检测试剂盒（GOD-POD 法）说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2505

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

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 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存

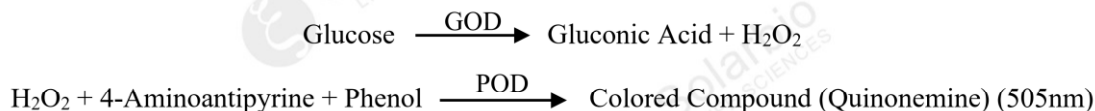
溶液的配制：

- 1、试剂一：2μmol/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。

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。



技术指标：

最低检出限：0.02 μmol/mL

线性范围：0.03-5 μmol/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、超声破碎仪、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、蒸馏水。

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（缠封口膜，防止爆盖），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（10⁴ 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 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 置沸水浴中煮沸 10min (缠封口膜, 防止爆盖), 冷却后, 8000g, 25°C 离心 10min, 取上清液备用。

二、测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 505nm, 分光光度计用蒸馏水调零。

2、样本测定 (在 1.5mL EP 管或 96 孔板中依次加入下列试剂):

试剂 (μL)	空白管	标准管	测定管
上清液	-	-	20
试剂一	-	20	-
蒸馏水	20	-	-
混合试剂	180	180	180

涡旋混匀, 置于 37°C 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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。(空白管和标准管只需测 1-2 次)。

三、葡萄糖含量计算

1、按样本蛋白浓度计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (V_1 \times C_{\text{pr}}) = 2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

2、按样本质量计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/\text{g 质量}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (W \times V_1 \div V_2) = 2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

3、按细菌或细胞数量计算

$$\text{葡萄糖含量}(\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (5 \times V_1 \div V_2) = 0.4 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$$

C 标准: 标准管浓度, 2μmol/mL; V₁: 加入样本体积, 20μL=0.02mL; V₂: 样本总体积, 1mL; C_{pr}: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 5: 细菌或细胞总数 (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 1.2, 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。

实验实例:

- 取 0.1g 小鼠肝脏加入 1mL 蒸馏水进行前处理步骤, 离心取上清后按测定步骤测定, 用 96 孔板测得吸光值 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.856 - 0.051 = 0.805$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.724 - 0.051 = 0.673$ 。按样本质量计算
葡萄糖含量 (μmol/g 质量) = $2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 2 \times 0.805 \div 0.673 \div 0.1 = 23.923 \mu\text{mol}/\text{g 质量}$
- 取 0.1g 绿萝叶片加入 1mL 蒸馏水进行前处理步骤, 离心取上清后按测定步骤测定, 用 96 孔板测得吸光值 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.318 - 0.051 = 0.267$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.724 - 0.051 = 0.673$ 。按样本质量计算
葡萄糖含量 (μmol/g 质量) = $2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 2 \times 0.267 \div 0.673 \div 0.1 = 7.935 \mu\text{mol}/\text{g 质量}$
- 取 5 百万 Jurkat 细胞样本加入 1mL 蒸馏水进行前处理步骤, 离心取上清后按测定步骤测定, 用 96 孔板测得吸光值 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.057 - 0.051 = 0.007$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.724 - 0.051 = 0.673$ 。按细胞数量计算
葡萄糖含量 (μmol/10⁶ cell) = $0.4 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} = 0.4 \times 0.007 \div 0.673 = 4.16 \times 10^{-3} \mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}$

相关发表文献:

[1] Chen S, Zhu Y, Xu Q, Jiang Q, Chen D, Chen T, Xu X, Jin Z, He Q. Photocatalytic glucose depletion and hydrogen generation for diabetic wound healing. Nat Commun. 2022 Sep 27;13(1):5684. doi: 10.1038/s41467-022-33475-7. PMID:



36167814; PMID: PMC9515190.

[2] Sun X, Shen J, Perrimon N, Kong X, Wang D. The endoribonuclease Arlr is required to maintain lipid homeostasis by downregulating lipolytic genes during aging. *Nat Commun.* 2023 Oct 6;14(1):6254. doi: 10.1038/s 41467-023-42042-7. PMID: 37803019; PMID: PMC10558556.

[3] Li K, Lin C, Li M, Xu K, He Y, Mao Y, Lu L, Geng W, Li X, Luo Z, Cai K. Multienzyme-like Reactivity Cooperatively Impairs Glutathione Peroxidase 4 and Ferroptosis Suppressor Protein 1 Pathways in Triple-Negative Breast Cancer for Sensitized Ferroptosis Therapy. *ACS Nano.* 2022 Feb 22;16(2):2381-2398. doi: 10.1021/acsnano.1c08664. Epub 2022 Jan 18. PMID: 35041395.

[4] Bao L, Cui X, Wang X, Wu J, Guo M, Yan N, Chen C. Carbon Nanotubes Promote the Development of Intestinal Organoids through Regulating Extracellular Matrix Viscoelasticity and Intracellular Energy Metabolism. *ACS Nano.* 2021 Oct 26;15(10):15858-15873. doi: 10.1021/acsnano.1c03707. Epub 2021 Oct 8. PMID: 34622660.

[5] Bao X, Guo G, Huo W, Li Q, Xu Q, Chen L. Ensiling pretreatment fortified with laccase and microbial inoculants enhances biomass preservation and bioethanol production of alfalfa stems. *Sci Total Environ.* 2023 Jan 20;857(Pt 2):159442. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.159442. Epub 2022 Oct 14. PMID: 36252666.

参考文献:

[1] Basagni U, Bonicolini F. Ready to use liquid reagent for determining the glucose content in blood; U.S. Patent 5,077,199[P]. 1991-12-31.

[2] Kabasakalian P, Kalliney S, Westcott A. Enzymatic blood glucose determination by colorimetry of N, N-diethylaniline-4-aminoantipyrine[J]. *Clinical chemistry*, 1974, 20(5): 606-607.

相关系列产品:

BC0340/BC0345 糖原含量检测试剂盒

BC2540/BC2545 纤维素酶 (CL) 活性检测试剂盒

BC0330/BC0335 海藻糖含量检测试剂盒

BC2490/BC2495 血糖含量检测试剂盒

