葡萄糖含量检测试剂盒说明书（GOD-POD 法）

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 本试剂盒仅用于科研。

3. 正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本上清进行预检测。若ΔA 测定＜0.05，建议加大样本质量（或细胞数量）或者样本上清液的加入量；ΔA 测定＞0.5，将上清液用生理盐水或蒸馏水稀释即可。计算公式中注意乘以稀释倍数。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	10 mL×1	4℃	
试剂二	10 mL×1	4℃	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱、超声破碎仪、研钵/匀浆器。

四、样品制备

1. 细菌、细胞

细菌或培养细胞：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（万个）：蒸馏水体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 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 10 min（缠封口膜，防止爆盖），冷却后，8000 g，常温离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 组织

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 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，8000 g，常温离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 液体样品：直接测定。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 505 nm 处。

2. 混合试剂配制：根据实际样品数量，使用前将试剂一和试剂二 1：1 等体积混合，现配现用。

3. 在 96 孔板中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管	空白管
样本（μL）	20	-
超纯水（μL）	-	20
混合试剂（μL）	180	180
涡旋混匀，置于 37℃水浴锅/恒温培养箱反应 15 min 后，于 505 nm 波长处读取吸光度，分别记为 A 测定和 A 空白。计算ΔA 测定=A 测定-A 空白。注意：空白管只需测 **2~3** 次。		

六、计算：

1. 标准方程

标准条件下测定的回归方程为 y=0.0586x-0.0092，R^2=0.9996；x 为标准品含量，μmol/mL；y 为ΔA 测定值。

2. 按照液体体积计算

葡萄糖含量（**μmol/mL**）=（ΔA+0.0092）÷0.0586×F=17.06×（ΔA+0.0092）×F

3. 按照蛋白浓度计算（需另外测蛋白浓度）

葡萄糖含量（**μmol/mg prot**）=[（ΔA+0.0092）÷0.0586×V1]÷（V1×Cpr）

=17.06×（ΔA+0.0092）÷Cpr

4. 按照样本质量计算

葡萄糖含量（**μmol/g** 鲜重）=[（ΔA+0.0092）÷0.0586×V1]÷（W×V1÷V2）

=17.06×（ΔA+0.0092）÷W

5. 按照细菌或细胞密度计算

葡萄糖含量（**μmol/10^4 cell)**=[（ΔA+0.0092）÷0.0586×V1]÷（500×V1÷V2）

=17.06×（ΔA+0.0092）÷细胞数量（万个）

F：样品稀释倍数；V1：加入反应体系中样本体积，20 μL=0.02 mL；V2：样本总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

七、产品简介

葡萄糖不仅是细胞能量代谢的主要底物，也是其代谢中间产物，对生物的代谢起到重要作用。