

葡萄糖检测试剂盒(GOD/POD显色法)

产品编号	产品名称	包装
S0202S	葡萄糖检测试剂盒(GOD/POD显色法)	100次
S0202M	葡萄糖检测试剂盒(GOD/POD显色法)	500次

产品简介:

- 碧云天研发的葡萄糖检测试剂盒(GOD/POD显色法), 即Glucose Colorimetric Assay Kit (GOD/POD Method), 也称Glucose Assay Kit (Colorimetric), 是一种基于葡萄糖氧化酶(Glucose oxidase, GOD)和过氧化物酶(Peroxidase, POD)的催化反应, 通过检测吸光度, 快速、高灵敏地对血清、血浆、尿液等生物体液、组织、细胞以及组织或细胞培养上清、饮料等样品中葡萄糖含量进行高灵敏度检测的试剂盒。
- 葡萄糖(Glucose), 也被称为Dextrose或Grape sugar, 被认为是自然界中分布最广且最为重要的一种单糖。葡萄糖是一种多羟基醛, 分子式为 $C_6H_{12}O_6$, 是饮食来源的三种主要单糖之一, 可以被直接吸收并进入血液, 是人体能量代谢和维持生命所必需的营养物质之一, 对维持机体代谢与内环境稳态有非常重要的作用[1]。另外两种饮食来源的主要单糖是果糖(Fructose)和半乳糖(Galactose)。天然的葡萄糖均为右旋即D型, 即D-Glucose。葡萄糖是生物体重要的能量来源和代谢中间产物。葡萄糖一方面是光合作用的主要产物[2], 另一方面也是呼吸反应的主要底物。在呼吸反应中, 葡萄糖通过一系列酶促反应氧化生成二氧化碳和水, 同时生成重要的能量分子ATP[3, 4]。由于葡萄糖在能量代谢方面的重要性, 血糖水平已经成为多种代谢疾病的重要诊断指标。病理性高血糖与许多疾病相关, 如糖尿病、甲亢以及垂体和肾上腺亢进, 而病理性低血糖常见于胰岛素分泌相关的肿瘤、黏液性水肿、垂体及肾上腺功能减退症等疾病。同时细胞内的葡萄糖水平也是监测细胞代谢状态的一个重要指标[5, 6]。
- 本试剂盒的检测原理请参考图1。葡萄糖在葡萄糖氧化酶(GOD)的催化作用下和氧气发生反应, 生成D-葡萄糖酸(Gluconic acid)和 H_2O_2 。生成的 H_2O_2 在过氧化物酶(Peroxidase, POD)的作用下与苯酚(Phenol)和4-氨基安替比林(4-Aminoantipyrine)生成红色的醌亚胺(Quinoneimine), 再通过检测红色醌亚胺在510nm的吸光度来最终计算样品中葡萄糖的含量。吸光度与样品中葡萄糖的含量成正比。

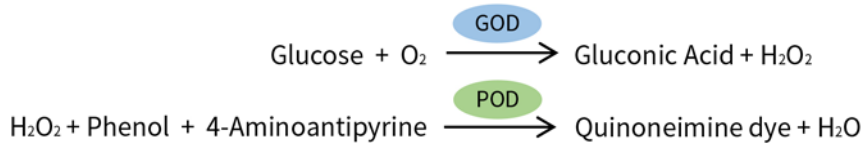


图1. 碧云天葡萄糖检测试剂盒(GOD/POD显色法) (S0202)检测原理图。

- 本试剂盒检测灵敏度高, 线性范围宽, 样品用量少。相较于葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine法) (S0201), 本试剂盒的检测灵敏度更高, 检测方法更为灵活。本试剂盒在样品体积为40 μ l时, 可以检测浓度低至0.01mg/ml的葡萄糖, 在0.01-0.4mg/ml (即0.056-2.22mM)浓度范围内有良好的线性关系。本试剂盒提供了葡萄糖标准溶液, 可以通过绘制标准曲线(图2), 计算出样品中的葡萄糖含量。如果样品的用量较少或者含量较低, 推荐使用检测灵敏度更高的Amplex Red葡萄糖检测试剂盒(S0343)。

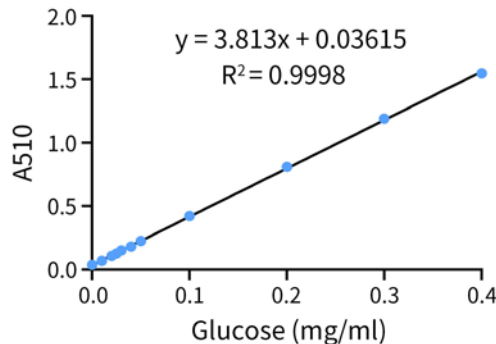


图2. 碧云天葡萄糖检测试剂盒(GOD/POD显色法) (S0202)检测葡萄糖标准品的标准曲线。40 μ l不同浓度的葡萄糖标准品, 与160 μ l Glucose检测工作液混匀后, 40 $^{\circ}$ C避光反应10分钟, 测定A510。在0.01-0.4mg/ml (0.056-2.22mM)浓度范围内有良好的线性关系。实际检测数据会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 本试剂盒提供的检测裂解液有一定的通用性。使用本试剂盒中的BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay裂解获得的细胞或组织样品, 也可以用于碧云天生产的其它代谢类试剂盒中同样使用BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay进行裂解的样品

检测，通用性强；而且还可用于检测蛋白浓度、进行SDS-PAGE或一些较易溶解蛋白的Western检测。

- **本试剂盒应用范围广。**本试剂盒可用于小鼠、大鼠、人等的血清、血浆、尿液等生物体液，细胞培养上清、组织、细胞或饮料样品等的检测，全程约20分钟即可完成。本试剂盒不仅适合少量样品的检测，也非常适合高通量筛选(High-throughput screening)的自动化操作系统。
- 按照使用说明操作，用于96孔板检测时，本试剂盒小包装可以进行100次检测，中包装可以进行500次检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
S0202S-1	BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay	20ml
S0202S-2	Glucose Assay Buffer	50ml
S0202S-3	Glucose Assay Reagent A	400μl
S0202S-4	Glucose Assay Reagent B	100μl
S0202S-5	Enzyme Solution	100μl
S0202S-6	Glucose Standard (4mg/ml)	200μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
S0202M-1	BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay	100ml
S0202M-2	Glucose Assay Buffer	250ml
S0202M-3	Glucose Assay Reagent A	2ml
S0202M-4	Glucose Assay Reagent B	500μl
S0202M-5	Enzyme Solution	500μl
S0202M-6	Glucose Standard (4mg/ml)	1ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，一年有效。其中Glucose Assay Reagent A须避光保存。

注意事项：

- 新配制的Glucose检测工作液为浅黄色或浅粉色，长期放置，试剂颜色可能会加深变成深粉色，此时应该弃用，否则可能会对检测产生干扰，因此建议尽量现配现用。
- 检测样品中若含有还原性物质如维生素C、谷胱甘肽和尿酸等会竞争消耗葡萄糖氧化生成的过氧化氢，使测定结果偏低。此时推荐使用不受还原性物质影响的葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine法) (S0201)。
- 与国内外同类产品相比，本试剂盒可设置背景对照，避免样品中可能的H₂O₂对结果的干扰。
- 血清、血浆等样品如果在4°C保存，保存的时间不得超过2周，否则会影响检测结果的准确性。通常血清样品宜-20°C保存，-80°C保存更佳。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 样品的准备：

- 血液样品的准备：对于血清样品，将全血在常温如25°C下放置30分钟-2小时，不要剧烈摇晃以免溶血，待全血自然凝固并析出血清后，4°C约1000-2000×g离心10分钟，取黄色上清即得血清，注意不要吸取白色或淡黄色沉淀；对于血浆样品，将全血用肝素或者EDTA进行抗凝，4°C约1000-2000×g离心10分钟，取黄色或淡黄色上清即得血浆，注意不要吸取白色沉淀。血清和血浆都需置于冰上，如果不能立即检测，也可以分装并短期保存于-20°C或-80°C。对于冻存的样品，在检测前解冻后冰浴存放备用，使用前必须混匀。
- 细胞或组织样品的准备：对于培养的贴壁细胞，PBS (C0221A)洗涤一次并吸净残留液体。对于培养的悬浮细胞，先适当离心(如100-500×g，5分钟)收集细胞到离心管内，弃上清并吸净残留液体。按照每100万细胞加入100-200μl BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay 的比例加入裂解液，适当吹打，冰浴5-10分钟以充分裂解细胞。4°C约12,000×g离心3-5分钟，取上清用于后续检测。对于组织样品，按照每10mg组织加入100μl BeyoLysis™ Buffer A for Metabolic Assay的比例加入裂解液，使用TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48) (E6618)、TissueMaster™手持式组织研磨仪(E6600/E6607)或玻璃匀浆器在约4°C或冰浴等低温条件下进行匀浆。4°C约12,000×g离心3-5分钟，取上清用于后续检测。以上所有操作均需在4°C或冰上操作。制备好的细胞或组织样品如果不能立即检测，可以-20°C或-80°C冻存。
- 细胞培养上清样品的准备：对于贴壁细胞，直接取培养液；对于悬浮细胞，离心取培养液。

2. 试剂盒的准备：

- 融解Glucose Assay Buffer，平衡至室温后混匀备用。Glucose Assay Reagent A和 Glucose Assay Reagent B于融解后放置于冰浴备用，使用完毕后宜立即按照试剂盒要求的条件保存。

- b. Glucose检测工作液(Working Solution)的配制: 按照每个检测反应160 μ l的体积配制适量的Glucose检测工作液。均匀混合154 μ l Glucose Assay Buffer、4 μ l Glucose Assay Reagent A、1 μ l Glucose Assay Reagent B、1 μ l Enzyme Solution, 即可配制成160 μ l Glucose检测工作液。根据待检测样品(包括标准品)的数量, 配制适量的Glucose检测工作液。具体配制方法参考下表。配制好的Glucose检测工作液如果置于4 $^{\circ}$ C或冰浴避光保存, 可以在当天使用, 但建议尽量现配现用。

Samples	1	10	20	50
Glucose Assay Buffer (μ l)	154	1540	3080	7700
Glucose Assay Reagent A (μ l)	4	40	80	200
Glucose Assay Reagent B (μ l)	1	10	20	50
Enzyme Solution (μ l)	1	10	20	50
Working Solution (μl)	160	1600	3200	8000

注1: 由于Glucose Assay Reagent A、Glucose Assay Reagent B和Enzyme Solution用量较少, 必须注意在使用前轻轻离心一下, 并适当混匀后再使用。

注2: H_2O_2 的存在会对葡萄糖的检测产生干扰。如果样品含有 H_2O_2 , 须同时设置样品背景对照孔, 加入不含Enzyme Solution的Glucose检测工作液, 即配制Glucose检测工作液时1 μ l Enzyme Solution用Glucose Assay Buffer替代。计算时样品孔的读数需要减去样品背景对照孔的读数。

3. 样品测定:

- a. 葡萄糖标准曲线设置: 取30 μ l Glucose Standard (4mg/ml), 加入270 μ l Glucose Assay Buffer, 混匀, 配制成浓度为0.4mg/ml的葡萄糖标准溶液。分别取0.4mg/ml的葡萄糖标准溶液0、1、2.5、5、10、20、30、40 μ l加入96孔板的标准品孔中, 并相应地用Glucose Assay Buffer补足至40 μ l, 此时, 标准曲线的浓度分别为0、0.01、0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4mg/ml。

注: 吸光度检测时推荐使用透明96孔板(FCP962/FPT010/FPT011)。

- b. 取1-40 μ l样品或稀释后的样品至96孔板样品孔中, 并相应地加入Glucose Assay Buffer至样品孔中, 补足至40 μ l。同时设置仅含Glucose Assay Buffer的孔为空白对照。

注: 为确保样品数值在标准曲线范围内, 建议进行预实验将样品设置多个稀释倍数, 以确定样品中葡萄糖的大致浓度, 如果数值不在标准曲线范围内, 请调整样品的稀释倍数或者样品的量。样品总稀释倍数记为n (例如本步骤中对样品进行了10倍稀释, 加入的‘稀释后的样品’为20 μ l, 则 $n=10 \times 40/20=20$)。

- c. 每孔加入Glucose检测工作液160 μ l, 混匀, 40 $^{\circ}$ C避光反应10分钟。

- d. 反应结束后, 请在A510nm进行吸光度检测。

- e. 建立标准曲线, 并计算样品中葡萄糖的浓度(A)葡萄糖标准曲线可以参考图2, 吸光度检测在0.01-0.4mg/ml浓度范围内有良好的线性关系。葡萄糖浓度的计算公式如下:

$$C(\text{mg/ml})=A \times n$$

注: A为步骤3e根据标准曲线确定的葡萄糖含量(mg/ml);

n为步骤3b样品总稀释倍数。

可根据葡萄糖的分子量180计算出样品中葡萄糖的摩尔浓度(mM)=C/0.18。

附: 血液、尿液、肝脏样品中葡萄糖含量的参考值

样本	人	实验动物
血浆	空腹: 3.9-6.1mmol/L (70-110mg/dl) 餐后1小时: 6.7-9.4mmol/L 餐后2小时: \leq 7.8mmol/L 血糖正常值正常人在餐后2小时的全血血糖不超过5.6mmol/L (100mg/dl), 血浆血糖不超过6.4mmol/L (115mg/dl)。若餐后2小时的全血血糖 \geq 7.8mmol/L (140mg/dl), 血浆血糖 \geq 8.9mmol/L (160mg/dl)时, 可诊断为糖尿病	ICR小鼠空腹血糖正常参考值范围: 3.5-7.1mmol/L, 高血糖模型: $>$ 11.1mmol/L C57小鼠禁食2h-4h后血糖值: 5-7.5mmol/L, 受到应激后血糖会升高到8-10mmol/L
尿液	正常人尿液中可有微量葡萄糖, 尿内排出量应 $<$ 2.8mmol/24h ($<$ 0.5g/24h), 浓度为0.1-0.8mmol/L(1-15mg/dl) 尿糖阴性值范围: 0.7-0.52mmol (31-93mg)/日	尿液中葡萄糖排出量正常范围: 1.98-3.09mg/24h
肝脏	—	家兔 213.1 \pm 15.3 μ g 葡萄糖/mg 蛋白 小鼠肝脏组织中的含量为80-106 μ g 葡萄糖/mg 蛋白

参考文献:

- Han HS, Kang G, Kim JS, Choi BH, Koo SH. 2016. 48(3):e218.
- Siddiqui H, Sami F, Hayat S. Carbohydr Res. 2020. 487:107884.
- Finn OJ. J Immunol, 2006. 36(1-3):73-82.

- Jordan S, Tung N, Casanova-Acebes M, Chang C, Cantoni C, et al. Cell. 2019. 178(5):1102-1114.
- Vivier E, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, et al. Cell. 2018. 174(5):1054-1066.
- Sun L, Wang X, Saredy J, Yuan Z, Yang X, et al. Redox Biol. 2020. 37:101759.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
S0201	葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine法)	200次/1000次
S0202	葡萄糖检测试剂盒(GOD/POD显色法)	100次/500次
S0343S	Amplex Red葡萄糖检测试剂盒	100次

Version 2024.11.21