

## 葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 微板法)

### A1371397

储存温度 见组分表。

#### 产品介绍

葡萄糖(Glucose, Dextrose, Glu)又称玉米葡糖, 简称葡糖, 化学式为  $C_6H_{12}O_6$ , 分子量 180.16, 是自然界分布最广、最为重要的单糖, 属于多羟基醛。酶学方法是生化检测中测定葡萄糖的常用手段, 其中以葡萄糖氧化酶法和己糖激酶法最为常用, 这类方法具有灵敏度、准确度与精密度均较高、反应条件温和、对葡萄糖具有专一性且不受其他糖及还原物质干扰、操作简便、适用于自动分析仪等特点。

葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 微板法) 又称葡萄糖氧化酶法或葡萄糖氧化酶-过氧化物酶偶联法, 其检测原理为: 在葡萄糖氧化酶的催化下, 葡萄糖被氧化成葡萄糖酸, 同时消耗溶液中的氧并产生过氧化氢, 过氧化氢与显色底物反应生成红色的醌类化合物, 反应初期过氧化氢的生成量与葡萄糖浓度成正比, 可通过酶标仪在 505 nm 处进行检测。

该试剂盒可用于人或动物血清、血浆、脑脊液、细胞、组织等样本中葡萄糖含量的定量测定, 但不宜直接用于尿液中葡萄糖的检测, 其中 Glu 标准液浓度为 5 mmol/L(相当于 90 mg/dl)。本试剂盒仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

#### 产品组分表

A1371397	Component	200 T	500 T	Storage
A1371397A	酚试剂	25 mL	65 mL	RT. Store in the dark.
A1371397B	酶试剂	25 mL	65 mL	-20°C. Avoid freeze/thaw cycle. Store in the dark.
A1371397C	Glu 标准 (5mmol/L)	1 mL	1 mL	2-8°C.
A1371397D	ddH <sub>2</sub> O	1 mL	1 mL	RT.

临用前, 按酚试剂: 酶试剂=1: 1 混匀, 即 GOD-POD 工作液, 4°C保存。

#### 自备仪器和试剂

- 酶标仪;
- 离心管或 96 孔板、匀浆机、离心机、水浴锅或恒温箱 ;
- 生理盐水或 PBS。

## 操作步骤(仅供参考)

### 1. 样本处理

#### 1.1. 血清、血浆、脑脊液样品

从待测样品中分离出的血清或血浆不应有溶血，直接测定，如超过线性范围 (30 mmol/L)，用生理盐水或 PBS 稀释后测定。

#### 1.2. 细胞样品

- (1) 取适量的细胞(一般推荐 $>10^6$ 以上)，1000g 离心 10 min，弃上清，留取沉淀。
- (2) 用 PBS 或生理盐水清洗 1~2 次，1000g 离心 10 min，弃上清，留取沉淀。
- (3) 加入 200~300  $\mu$ L 的 PBS 或生理盐水匀浆，冰浴条件下超声破碎细胞，功率 300W，每次 3~5 s，间隔 30 s，重复 3~5 次，亦可手动匀浆，制备好的匀浆液不可离心；亦可用 1~2% Triton X-100 冰浴 30~60 min，制备好的裂解液不可离心。

#### 1.3. 组织样品

准确称取适量组织样品，按质量(g): 生理盐水或 PBS(ml)=1: 9 的比例，加入生理盐水或 PBS，冰浴条件下手动或机械匀浆，2500~3000g 离心 10 min，取上清。

### 2. 加样

取 96 孔板，参考下表设置空白孔、标准孔、测定孔，依次加入各种溶液，充分混匀，37°C 水浴锅或 45°C 恒温箱中孵育 15 min。

加入物( $\mu$ L)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH <sub>2</sub> O	2.5	—	—
Glu 标准 (5mmol/L)	—	2.5	—
待测样品	—	—	2.5
GOD-POD 工作液	250	250	250

### 3. 测定

冷却后，测定 505 nm 处吸光度，以空白孔调零，读取标准孔、测定孔的吸光度，分别记为  $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。

### 4. 计算

$$\text{Glu (mmol/L)} = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 5$$

$$\text{Glu (mg/L)} = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 900$$

## 参考区间

健康成年人空腹葡萄糖：3.9~6.1 mmol/L (70~110 mg/dl)。

备注：Glu 标准 (5 mmol/L)=90 mg/dl=900 mg/L。

## 性能指标

外观	无色至淡黄色澄清液体
线性范围	0~30 mmol/L, $r>0.990$
变异系数	批内 $<2\sim5\%$ , 批间 $<5\%$
空白吸光值	$<0.2$ (1cm 光径)
稳定性	密闭, 6 个月

## 注意事项

1. 配制好的 GOD-POD 工作液, 4°C 避光保存, 1 周有效, 低温试剂避免反复冻融, 以免失效或效率下降。
2. 测定标本用血清或以草酸钾-氟化钠抗凝的血浆(可抑制葡萄糖的分解), 可直接用于检测脑脊液中的葡萄糖含量, 待测样品如不能及时测定应置于 2~8°C 保存, 3 天内稳定。
3. 尿葡萄糖目前多采用此法进行定量测定, 但不能直接检测, 需先用班氏法对尿液样品做半定量试验, 按测出的大概含量, 用蒸馏水稀释尿液使葡萄糖含量在 3 mg/mL 以下, 再进行检测, 计算结果乘以稀释倍数即可; 因为未经处理的尿液中尿酸等还原性物质的浓度较高, 影响过氧化物酶反应, 可能会造成结果假性偏低。
4. 随着时间的延长, 低浓度样品亦会显红色, 所以 15 min 后应及时检测, 时间不宜过久。
5. 采用酶标仪未调零情况下空白参考范围在 0.04~0.09 之间, 5 mmol/L 标准参考范围在 0.25~0.45 之间, 由于仪器设备、操作方法等不同, 参考范围会有差异。
6. 该试剂盒测定下限为 0.1 mmol/L, 测定上限为 30 mmol/L; 以肉眼观察, 浓度 $\leq 0.6$  mmol/L 几乎呈无色, 浓度在 0.7 mmol/L 即可显淡红色, 浓度 $\geq 2.5$  mmol/L 可显红色, 一般情况下接近上限比接近下限更准确。
7. 本法线性范围可达 30 mmol/L, 如果样品葡萄糖浓度过高, 结果可能呈假性降低, 应用生理盐水或 PBS 等稀释后重测, 结果乘以稀释倍数。
8. 试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。
9. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。