**葡萄糖(GLU)测定试剂盒说明书（货号：PYB2042,规格：96T）**

1. **实验原理：**

PDP

GOD

D-葡萄糖+H2O+O2 D-葡萄糖+H2O2 ，H2O2+4-氨基安替比林+DHBS 红紫色色素

在505nm处测试，其颜色与葡萄糖浓度成正比。

1. **试剂组份**：

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 试剂组成 | 规格 | 组份 | 浓度 | 保存条件 |
| 工作液 | 25mL×1瓶 | 磷酸盐缓冲液 | 100mmol/L | 2～8℃避光 |
| DHBS | 2.0mmol/L |
| 4-氨基安替比林 | 1.0mmol/L |
| 葡萄糖氧化酶 | 10kU/L |
| 氯化镁 | 3.5mmol/L |
| 过氧化物酶 | 8kU/L |
| 标准品 | 0.1mL×1支 | 葡萄糖 | 浓度见标签 |  |
| 附送96孔平底酶标板一块 | | | | 室温放置 |

注意事项:

1.本产品仅用于科研，不得用于临床诊断，切勿服用。

**2.**样品含量如超出检测范围上限(15mmol/L)时，可用生理盐水稀释样本后进行测定，测定结果乘以稀释倍数;样本葡萄糖含量较低(小于2.2mmol/L)时可以增加样本取样量后测定。

所需仪器及试剂：可调 505nm 波长的酶标仪， 37℃水浴锅或恒温箱，蒸馏水，生理盐水，蛋白测定试剂.

1. **使用步骤：**

1、样本处理:

①、血清(或肝素抗凝血浆)：直接测定，如超过线性范围用生理盐水稀释后测定。

②、培养液样本：吸取培养液，1000转/分，离心10分钟，取上清测定。[注]：一般建议细胞密度在100万个/mL以上。

③、组织样本：准确称取组织重量，按重量(g)：体积(mL)=1：9的比例，加入9倍体积的生理盐水（或PBS），冰水浴条件下机械匀浆，2500转/分，离心10分钟，取上清液待测。

④、细胞样本：(建议收集的细胞密度在100万个/mL以上。破碎好的液体可显微镜观察细胞是否破碎完全)A、细胞收集：将制备好的细胞悬液取出，1000转/分，离心10分钟，弃上清液，留细胞沉淀；用等渗缓冲液（推荐0.1mol/L、pH7～7.4磷酸盐缓冲液）清洗1～2次，同样1000转/分，离心10分钟，弃上清液，留细胞沉淀；B、细胞破碎：加入0.2～0.3mL的匀浆介质（推荐0.1mol/L、pH7～7.4磷酸盐缓冲液或生理盐水）进行匀浆，冰水浴条件下超声破碎(功率300W，3～5秒/次，间隔30秒,重复3～5次)或手动匀浆，制备好的匀浆液不离心直接测定。也可采用裂解液裂解(推荐TritonX-100，1～2%，裂解30～40分钟)，裂解好的液体不离心直接测定。

操作表：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 96孔板操作，酶标仪比色 | | | |
|  | 空白孔 | 标准孔 | 样本孔 |
| 蒸馏水（μL） | 2.5 |  |  |
| 标准品（μL） |  | 2.5 |  |
| 样本（μL） |  |  | 2.5 |
| 工作液（μL） | 250 | 250 | 250 |
| 轻轻振荡孔板，37℃孵育10分钟，波长505nm，酶标仪测定各孔吸光度值A  A测定-A空白 | | | |

计算公式：

1、血清等液体样本计算公式：

酶标仪比色:

A测定-A空白

葡萄含量（mmol/L）= ×C标准×样本稀释倍数

A标准-A空白

C标准:标准品浓度,5.55mmol/L(具体浓度以标签为准)

组织、细胞计算公式（组织、细胞不建议使用生化分析仪测）:

A标准-A空白

葡萄含量（mmol/L）= ×C标准÷Cpr

C标准:标准品浓度,5.55mmol/L(具体浓度以标签为准)

参考文献： **1**、《现代临床生化检验学》，张秀明、李建斋， 2001， P84 **2**、《实用医学检验学》，朱忠勇， 1992， P423