



葡萄糖测试盒说明书 (过氧化物酶方法)

一、A:测定原理:

样本中的葡萄糖经葡萄糖氧化酶作用生成葡萄糖酸和过氧化氢，后者在过氧化物酶的作用下，将还原性 4-氨基安替比林与酚偶联合成可被分光光度计测定的醌类化合物。

B:试剂组成与配制:

测定试剂: 100ml*2 瓶, 2-8℃避光保存 1 年。

标准品: 2.5mlX2, 浓度为 5.55mmol/L, 2-8℃避光保存 1 年。

二、操作过程:

1、样本处理:

①、血清(浆): 直接测定, 如超过线性范围用生理盐水稀释后测定。

[注]: 血清或血浆应尽快从样本管中分离, 不应溶血。

②、培养液样本: 吸取培养液, 2500 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 倍体积的匀浆介质, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液待测。

[注]: 匀浆介质可统一用磷酸盐缓冲液(0.1mol/L pH 7.4)或生理盐水进行提取。

④、细胞样本:

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;

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待测。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。

[注]: 一般建议收集的细胞数量在 100 万个以上。破碎好的液体可显微镜观察细胞是否破碎完全

2、操作表: (按样本: 工作液=1:100)

分光光度计 (1ml 比色杯)、半自动生化分析测定			
	空白管	校准管	样本管
蒸馏水 (ml)	0.01		
5.55mmol/L 校准品 (ml)		0.01	
样本 (ml)			0.01
工作液 (ml)	1	1	1

混匀后 37℃保温 5 分钟, 505nm, 蒸馏水或者空白管调零, 测定各管吸光度值。

普通试管操作分光光度计比色(2ml 比色杯)			
	空白管	校准管	样本管
蒸馏水 (ml)	0.02		
5.55mmol/L 校准品 (ml)		0.02	
样本 (ml)			0.02
工作液 (ml)	1	1	1

混匀后 37℃保温 5 分钟, 505nm, 蒸馏水或者空白管调零, 1cm 光径比色。

96 孔板操作, 酶标仪比色			
	空白孔	校准孔	样本孔
蒸馏水 (μl)	3		
5.55mmol/L 校准品 (μl)		3	
样本 (μl)			3
工作液 (μl)	300	300	300

混匀后 37℃保温 5 分钟, 505nm 处, 酶标仪测定各孔吸光度值。

全自动上机操作(样本:试剂=1:100, 根据需要可按比例调节加样量)			
样本量/水	Sample Volume	μl	3
工作液	reagent	μl	300
37℃保温 5 分钟, 工作液+蒸馏水调零, 测定光吸收值 A。			
主波长	Main wavelength	nm	505
反应类型	Reaction type		终点法
反应方向	Reaction direction		升反应(+)

全自动上机操作(样本:试剂=1:100, 根据需要可按比例调节加样量)			
样本量/水	Sample Volume	μl	3
工作液	reagent	μl	300
37℃保温 5 分钟, 工作液+蒸馏水调零, 测定光吸收值 A。			
主波长	Main wavelength	nm	505
反应类型	Reaction type		终点法
反应方向	Reaction direction		升反应(+)

三、计算公式:

1、血清等液体样本计算公式:

$$\text{双蒸水调零: 葡萄糖 (Glu) 含量 (mmol/L)} = \frac{\text{样本OD值} - \text{空白OD值}}{\text{校准OD值} - \text{空白OD值}} \times \text{校准品浓度} (5.55\text{mmol/L})$$

$$\text{空白管调零: 葡萄糖 (Glu) (mmol/L)} = \frac{\text{样本OD值}}{\text{校准OD值}} \times \text{校准品浓度} (5.55\text{mmol/L})$$

$$\text{酶标仪比色: 葡萄糖 (Glu) (mmol/L)} = \frac{\text{样本OD值} - \text{空白OD值}}{\text{校准OD值} - \text{空白OD值}} \times \text{校准品浓度} (5.55\text{mmol/L})$$

$$\text{全自动生化分析仪: 葡萄糖 (Glu) (mmol/L)} = \frac{A_{\text{样}}}{A_{\text{校}}} \times \text{校准品浓度} (5.55\text{mmol/L})$$

[注]:校准品浓度 5.55mmol/L=99.9mg/dl

2、组织、细胞计算公式:

$$\text{双蒸水调零: 葡萄糖 (Glu) 含量 (mmol/L)} = \frac{\text{样本OD值} - \text{空白OD值}}{\text{校准OD值} - \text{空白OD值}} \times \text{校准品浓度} (5.55\text{mmol/L}) \div \text{待测样本蛋白浓度} (\text{mgprot/ml})$$

$$\text{空白管调零: 葡萄糖 (Glu) 含量 (mmol/L)} = \frac{\text{样本OD值}}{\text{校准OD值}} \times \text{校准品浓度} (5.55\text{mmol/L}) \div \text{待测样本蛋白浓度} (\text{mgprot/ml})$$

$$\text{酶标仪比色: 葡萄糖 (Glu) 含量 (mmol/L)} = \frac{\text{样本OD值} - \text{空白OD值}}{\text{校准OD值} - \text{空白OD值}} \times \text{校准品浓度} (5.55\text{mmol/L}) \div \text{待测样本蛋白浓度} (\text{mgprot/ml})$$

$$\text{全自动生化分析仪: 葡萄糖 (Glu) 含量 (mmol/L)} = \frac{A_{\text{样}}}{A_{\text{校}}} \times \text{校准品浓度} (5.55\text{mmol/L}) \div \text{待测样本蛋白浓度} (\text{mgprot/ml})$$