

葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine 法)

产品编号	产品名称	包装
S0201S	葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine 法)	200 次
S0201M	葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine 法)	1000 次

产品简介:

- 葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine法) (Glucose Assay Kit with O-toluidine)是一种基于葡萄糖与邻甲苯胺的显色反应,通过比色法超高灵敏度、超宽线性范围检测血清、血浆、尿液、细胞或组织裂解液、饮料等溶液中葡萄糖含量的试剂盒。
- **本试剂盒灵敏度高、线性范围极宽、使用便捷。**本试剂盒对于在5-10,000mg/dl (相当于约0.28-550mM)范围的葡萄糖内有良好线性,并且具有操作便捷、显色稳定、无需煮沸、成本低、适合高通量检测等优点。本试剂盒检测下限可以达到5mg/dl (20μl样品),相当于50ng/ml或278μM;检测上限可以达到2000mg/dl (5μl样品)或10,000mg/dl (1μl样品),相当于20mg/ml (约111mM)或100mg/ml (约555mM)。本试剂盒既可以轻松检测正常血样中的葡萄糖浓度,也可以检测高血糖血样品。市售常见血糖仪的葡萄糖浓度检测范围约为1-30mM,相当于约20-600mg/dl,在检测一些过高血糖或过低血糖样品时会存在困难,而本试剂盒提供了5-10,000mg/dl (相当于约0.28-550mM)极宽的葡萄糖浓度检测范围。
- **本试剂盒所需样品体积小。**本试剂盒推荐的样品用量为5-20μl,也可以使用如1-2μl或更小体积的样品。
- **本试剂盒特异性好。**与常用的葡萄糖氧化酶-过氧化酶偶联(GOD-POD)法相比,由于邻甲苯胺试剂只与醛糖显色,且不受其它还原性物质的影响,本试剂盒非常适合血清、尿液等溶液中葡萄糖浓度的检测。
- 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C₆H₁₂O₆,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。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,另一方面也是呼吸反应的主要底物。在呼吸反应中,葡萄糖通过一系列的酶促反应氧化生成二氧化碳和水,同时产生重要的能量分子ATP。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。
- 本试剂盒检测葡萄糖的原理参考图1。经改良和优化的邻甲苯胺试剂(O-toluidine reagent),即试剂盒中的Glucose Assay Reagent,与葡萄糖发生缩合反应,生成最大吸收波长为630nm的蓝绿色Schiff 碱,并且630nm处的吸光度值与样品中的葡萄糖浓度成正比。这样就可以通过设置葡萄糖的标准曲线,定量计算出样品中的葡萄糖浓度。

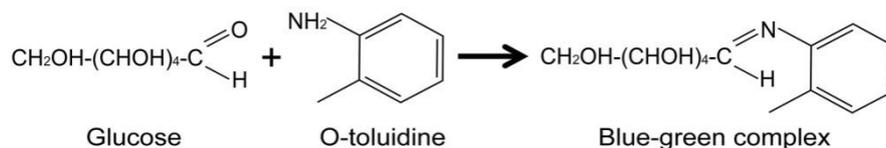


图 1. 邻甲苯胺法葡萄糖检测原理图。

- 除葡萄糖外,其它糖在反应过程中也能产生有色化合物,它们产生吸光度的比率分别为:葡萄糖 = 1.00;果糖 = 0.06;甘露糖 = 0.96;半乳糖 = 1.42;蔗糖 = 0.16;麦芽糖 = 0.09;乳糖 = 0.39;木糖 = 0.12。在这些糖中只有葡萄糖、果糖和半乳糖存在于正常人血清中,但果糖和半乳糖在正常人血液中含有量很低,对实际测定结果影响极小。对于本试剂盒的检测干扰比较大的乳糖和半乳糖主要存在于哺乳动物的乳汁中,乳糖、半乳糖和甘露糖在哺乳动物细胞或组织中的含量通常都非常低,通常都不会影响葡萄糖的检测。
- 邻甲苯胺法的检测结果与葡萄糖氧化酶法和己糖激酶法一致,但对于尿毒症患者的样品,邻甲苯胺法的检测结果略偏高。
- 一个小包装的本试剂盒可进行200次检测,一个中包装的本产品可以进行1000次检测。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
S0201S-1	Glucose Assay Reagent	40ml
S0201S-2	Glucose (200mg/ml)	0.3ml
—	说明书	1 份

产品编号	产品名称	包装
------	------	----

S0201M-1	Glucose Assay Reagent	200ml
S0201M-2	Glucose (200mg/ml)	1.5ml
—	说明书	1份

保存条件：

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

注意事项：

- Glucose Assay Reagent为淡黄色，长期放置可能会产生棕色物质，该棕色物质会干扰比色检测。如果Glucose Assay Reagent已经出现很明显的棕色物质，本试剂盒不宜继续使用。
- 血糖测定需及时进行。若放置过久，血液中血细胞的糖酵解作用会降低血液葡萄糖浓度。如不能立即进行检测，可根据情况，制备成血清后冷冻保存或直接冷冻保存，待后续检测。
- 高脂血的标本显色反应时，有时会出现浑浊，影响检测结果。可先制备血滤液或加入显色液一半体积量的异丙醇，充分混匀，溶解脂质可消除浊度，但所测吸光度须乘以1.5。
- Glucose Assay Reagent呈酸性，有一定的腐蚀性，需注意适当防护。
- 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：

- a. **血样及尿样等的准备：**对于血浆、血清、尿液以及饮料等样品可以直接进行测定。
- b. **细胞样品的准备：**去除培养液，用适量PBS清洗两次。按照6孔板(约50-100万细胞/孔)每孔加入100-200μl裂解液的比例加入碧云天的S3062 细胞与组织裂解液(葡萄糖检测用)或自行配制适当裂解液。用移液器吹打数次，使裂解液与细胞充分接触，充分裂解后，12,000×g离心5分钟，取上清作为待测样品。
- c. **组织样品的准备：**称取适量的新鲜或冻存组织，按照组织重量(mg)与上述裂解液体积(μl)的比例为1:10的比例用碧云天生产的E6600 TissueMaster™手持式组织研磨仪、玻璃匀浆器或其它适当匀浆设备充分匀浆组织。例如50mg组织加入500μl裂解液进行匀浆。匀浆后转移至离心管中，12,000×g离心5分钟，取上清作为待测样品。

2. **标准品的准备：**自备蒸馏水、生理盐水或PBS，用于稀释本试剂盒提供的200mg/ml葡萄糖标准品至标准曲线所需浓度。200mg/ml相当于200g/L，即20g/dl或20,000mg/dl。初次检测可以设置0、5、10、20、50、100、200、400、800、1200、1600和2000mg/dl的葡萄糖标准曲线。待确定样品的葡萄糖浓度范围后，可以根据情况自行选择适当浓度范围的葡萄糖标准曲线。

3. **检测试剂的准备：**取出Glucose Assay Reagent，融解、混匀并恢复至室温。

4. 样品和标准品的检测：

- a. 取5μl标准品或样品至PCR管(例如FTUB322/FTUB323 BeyoGold™ PCR管(0.2ml, 凸盖, 透明))中，也可以使用PCR 8联管(例如FTUB328/FTUB329 BeyoGold™ PCR八联排管(0.2ml, 凸盖, 透明))或96孔PCR板。注：如果样品中葡萄糖浓度非常低，可以取20μl标准品或样品；如果样品体积非常少并且葡萄糖浓度也在适当范围内，可以取1-2μl标准品或样品，甚至更小体积。
- b. 加入185μl Glucose Assay Reagent，使最终体积为190μl。注：如果上一步骤加入20微升标准品或样品，此时加入170μl邻甲苯胺检测试剂使最终体积为190μl；如果上一步骤加入1μl样品或标准品，此时加入189μl邻甲苯胺检测试剂使最终体积为190μl；如果上一步骤加入其它体积样品或标准品，此时需加入邻甲苯胺检测试剂使最终体积为190μl。
- c. 涡旋混合后，5000×g离心数秒使液体沉降至管底。
- d. PCR仪上95°C加热8分钟，并降温至4°C。
- e. 降温至4°C后，即可取出PCR管。每管吸出180μl液体至一洁净的96孔板中。转移液体时注意避免产生气泡。
- f. 630nm测定吸光度(也可检测620-650nm)。为获得较理想的检测结果，吸光度测定宜在95°C反应结束后30分钟内完成。
- g. 根据标准曲线计算出样品中的葡萄糖浓度。对于细胞或组织样品，通常需测定蛋白浓度计算出单位蛋白量样品中的葡萄糖含量，或根据组织重量计算出单位重量组织中的葡萄糖含量，并将葡萄糖浓度表述为μg/mg蛋白或μg/mg组织。1mg/dl葡萄糖的浓度相当于55.5μM，0.001%或10ppm。如果样品检测出来的吸光度值高于检测上限值，则需适当稀释样品后，再进行检测；如果样本中葡萄糖浓度过低，并把样品的体积加大到20μl时获得的检测数据仍然不在标准曲线的范围内，则说明该样品不适合使用本试剂盒进行检测。葡萄糖标准曲线参考图2。

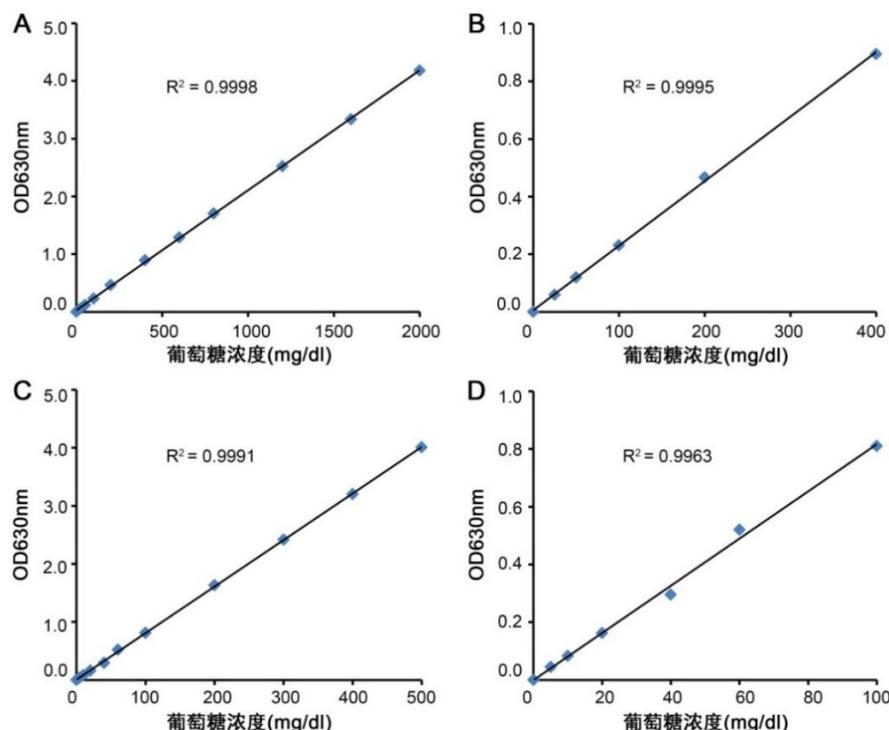


图2. 本试剂盒的葡萄糖标准曲线参考图。图A、B为5 μ l标准品+185 μ l Glucose Assay Reagent反应体系时，0-2000mg/dl和0-400mg/dl葡萄糖标准曲线图。图C、D为20 μ l标准品+170 μ l Glucose Assay Reagent反应体系时，0-500mg/dl和0-100mg/dl葡萄糖标准曲线图。上图仅作参考，实际测定获得的标准曲线可能和上图存在一定差异。

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：≤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≥7.8mmol/L (140mg/dl)，血浆血糖≥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 ± 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

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
S0026	ATP 检测试剂盒	200 次
S0026B	ATP 检测试剂盒	200 次
S0027	增强型 ATP 检测试剂盒	200 次
S0175	NAD ⁺ /NADH 检测试剂盒(WST-8 法)	100 次
S0179	NADP ⁺ /NADPH 检测试剂盒(WST-8 法)	100 次
S0185	G6P 检测试剂盒(WST-8 法)	100 次
S0189	G6PDH 活性检测试剂盒(WST-8 法)	100 次
S0201S	葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine 法)	200 次
S0201M	葡萄糖检测试剂盒(O-toluidine 法)	1000 次