

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-F037

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 荧光酶标仪(激发波长 535 nm, 发射波长 590 nm)

Elabscience®葡萄糖(GLU)荧光法测试盒

Glucose (GLU) Fluorometric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、尿液、体液、细胞等样本中葡萄糖含量。

检测原理

葡萄糖氧化酶，能催化葡萄糖氧化成葡萄糖酸，并产生过氧化氢，在过氧化物酶作用下，催化过氧化氢与无荧光物质反应生成有荧光的物质。

本试剂盒测定细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	-20℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	0.125 mL×1 支	0.25 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	5 mmol/L 标准品 (5 mmol/L Standard)	0.5 mL×1 支	0.5 mL×1 支	-20℃ 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：荧光酶标仪(激发波长 535 nm，发射波长 590 nm)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂一、二、三、四平衡至室温。

② 试剂二工作液的配制：

每支试剂二用0.25 mL试剂一溶解，未用完部分，分装后-20℃避光保存一个月。

③ 显色剂工作液的配制：

按试剂一：试剂二工作液：试剂三= 46: 2: 2的体积比配制，现用现配，按需配制，避光保存。

④ 50 μmol/L葡萄糖标准品：

按试剂四：试剂一=1: 99的体积比配制，未用完部分2-8℃保存七天。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μmol/L)	0	2	4	6	8	10	15	20
50 μmol/L 标准品 (μL)	0	20	40	60	80	100	150	200
试剂一(μL)	500	480	460	440	420	400	350	300

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本：可直接测定。

细胞样本：取收集好的细胞样本 2×10^6 ：试剂一 100 μL 进行匀浆，离心取上清待测。上清留取一部分进行蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.1-20 $\mu\text{mol/L}$ ，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	300-600	人尿液	不稀释
人血浆	300-600	人乳汁	400-600
鸡血清	600-1000	唾液	3-5

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

避免试剂二工作液的反复冻融，溶解后可分装-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

操作步骤

- ① 标准孔：取 50 μL 不同浓度标准品，加到对应的标准孔中
测定孔：取 50 μL 待测样本，加入到测定孔中。
- ② 向①中标准孔、测定孔加入 50 μL 显色剂工作液。
- ③ 酶标仪振板 10 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 15 min。
- ④ 荧光酶标仪上设置激发波长 535 nm, 发射波长 590 nm, 测定各孔荧光值。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品(μL)	50	--
待测样本(μL)	--	50
显色剂工作液(μL)	50	50
酶标仪振板 10 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 15 min, 设置激发波长 535 nm, 发射波长 590 nm, 测定各孔荧光值		

本试剂盒检测细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

液体样本中葡萄糖(GLU)的含量计算公式:

$$\text{GLU 含量} \begin{matrix} (\mu\text{mol/L}) \end{matrix} = (\Delta F - b) \div a \times f$$

细胞样本中葡萄糖(GLU)的含量计算公式:

$$\text{GLU 含量} \begin{matrix} (\mu\text{mol/gprot}) \end{matrix} = (\Delta F - b) \div a \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解:

y: 标准品荧光值-空白荧光值(标准品浓度为 0 时的荧光值)

x: 荧光值对应的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔF : 样本测定荧光值-空白荧光值

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr} : 细胞匀浆样本中蛋白浓度, gprot/L

附录1 关键数据

1. 技术参数

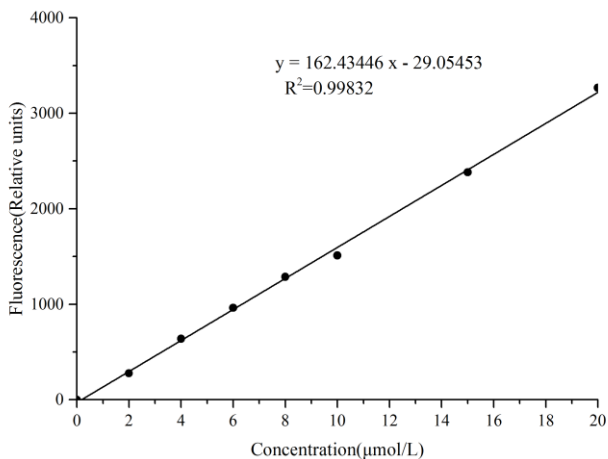
检测范围	0.1-20 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	2.8 %
灵敏度	0.1 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	1.7 %
平均回收率	99 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度标准品加样量50 μL , 按照操作步骤进行实验, 荧光值如下表所示:

标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	0	2	4	6	8	10	15	20
荧光值	147	427	780	1104	1446	1639	2515	3400
	148	422	791	1117	1423	1678	2546	3429
平均荧光值	148	424	786	1110	1434	1658	2530	3414
绝对荧光值	0	276	638	962	1286	1510	2382	3266

②绘制标曲(如下图):



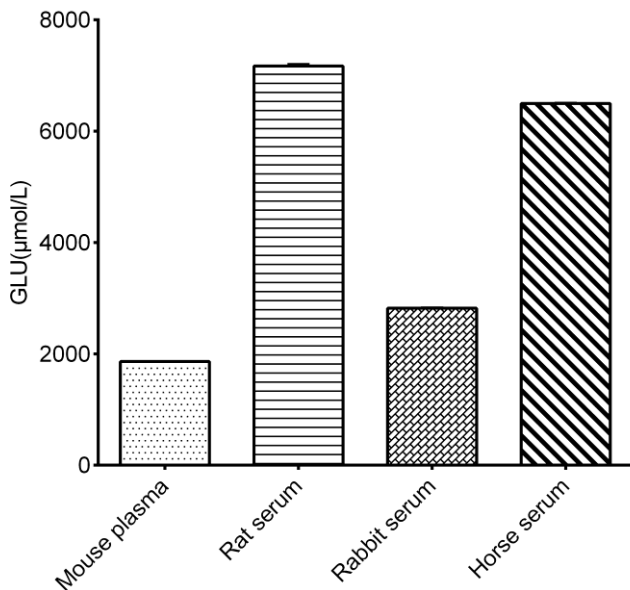
附录2 实例分析

例如检测人血浆(数据仅供参考):

人血浆用试剂一稀释300倍, 取50 μL 稀释后的样本按照说明书操作, 结果如下: 葡萄糖的荧光标准曲线: $y = 162.43x - 29.055$, 测定孔平均荧光值为2741, 空白孔平均荧光值为80, 计算结果为:

$$\text{GLU 含量} = (2741 - 80 + 29.055) \div 162.43 \times 300 = 4968.40 \mu\text{mol/gprot} (\mu\text{mol/L})$$

按照说明书操作, 测定小鼠血浆(稀释200倍, 加样量50 μL)、大鼠血清(稀释600倍, 加样量50 μL)、兔血清(稀释200倍, 加样量50 μL)和马血清(稀释600倍, 加样量50 μL)中GLU含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
荧光值低	样本稀释倍数太大	减小稀释倍数
	反应时间太短	延长反应时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测
样本测量结果>20 $\mu\text{mol/L}$	样本浓度太高	选择合适稀释倍数,重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Mu X, Xiang Z, Xu Y, et al. Glucose metabolism controls human $\gamma\delta$ T-cell-mediated tumor immunosurveillance in diabetes[J]. Cellular & Molecular Immunology. IF:22.096
2. Tseng S.Ja. An acid degradable, lactate oxidizing nanoparticle formulation for non-small cell lung cancer virotherapy[J]. Nano Today. IF:18.962
3. Zhang H, Zheng Q, Guo T, et al. Metabolic reprogramming in astrocytes results in neuronal dysfunction in intellectual disability. Mol Psychiatry. 2022. IF:15.992
4. Salman T M, Iyanda M A, Alli-Oluwafuyi A M, et al. Telfairia occidentalis stimulates hepatic glycolysis and pyruvate production via insulin-dependent and insulin-independent mechanisms[J]. Metabolism Open, 2021, 10(1-10):100092. IF:8.694
5. Li Q, Peng J, Luo Y, et al. Far infrared light irradiation enhances A β clearance via increased exocytotic microglial ATP and ameliorates cognitive deficit in Alzheimer's disease-like mice. J Neuroinflammation. 2022; 19 (1):145. IF:7.573
6. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. Pharmacological Research, 2019, 147, 104357. IF:5.574
7. Daily Dose of Bovine Lactoferrin Prevents Ethanol-Induced Liver Injury and Death in Male Mice by Regulating Hepatic Alcohol Metabolism and Modulating Gut Microbiota[J]. Molecular Nutrition & Food Research. IF:5.426
8. Wang Y, Xie W, Feng Y, et al. Epithelial-derived exosomes promote M2 macrophage polarization via Notch2/SOCS1 during mechanical ventilation. Int J Mol Med. 2022; 50 (1). IF:5.314
9. Yu C, Wang D, Tong Y, et al. Trans -Anethole Alleviates Subclinical Necro-Haemorrhagic Enteritis-Induced Intestinal Barrier Dysfunction and Intestinal Inflammation in Broilers. Front Microbiol. 2022; 13:831882. IF:5.259
10. Xu Y , Zhang Y , Xu Y , et al. Activation of CD137 signaling promotes macrophage apoptosis dependent on p38 MAPK pathway-mediated mitochondrial fission[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2021 Jul; 136:106003. IF:5.085
11. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. Life Sciences 266 (2021) 118876. IF:5.037

12. Zhong J, Sun P, Xu N, et al. Canagliflozin inhibits p-gp function and early autophagy and improves the sensitivity to the antitumor effect of doxorubicin[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2020, 175: 113856. IF:4.96
13. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
14. Laurian R, Ravent J, Dementhon K, et al. *Candida albicans* Hexokinase 2 Challenges the *Saccharomyces cerevisiae* Moonlight Protein Model[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(4):848. IF:4.128
15. Liu J, Duan P, Xu C Y, et al. CircRNA circ-ITCH improves renal inflammation and fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice by regulating the miR-33a-5p/SIRT6 axis[J]. *Inflammation Research*, 2021. IF:4.114
16. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
17. Sohini Sen, Shaunak Ghosh, Sayantan De, et al. Immunomodulatory and antimicrobial non-mulberry *Antheraea mylitta* silk fibroin accelerates in vitro fibroblast repair and regeneration by protecting oxidative stress[J]. *RSC Advances*, 2021 May; 11(31):19265-19282. IF:3.361
18. Li Jianda, Yuan Chen, Liu Peng et al. Red blood cells serve as a vehicle for PEDV transmission.[J]. *Vet Microbiol*, 2021, 257: 109081. IF:3.293
19. Ali A, Elsherbiny D, Azab S, et al. The diuretic amiloride attenuates doxorubicin-induced chemobrain in rats: Behavioral and mechanistic study[J]. *Neurotoxicology*, 2021, 88:1-13. IF:3.088
20. Yang H, Gan S, Jiang Z, et al. Protective effects of essential oil from *Fructus Alpiniae zerumbet* on retinal Müller gliosis via the PPAR- γ -p-CREB signaling pathway[J]. *Chinese Medicine*, 2020, 15(1): 4. IF:2.96
21. Chen Wenqi, Li Yuehua, Zhong Jing et al. circ-PRKCI targets miR-1294 and miR-186-5p by downregulating FOXK1 expression to suppress glycolysis in hepatocellular carcinoma.[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23: undefined. IF:2.952
22. Cui Y, Wang Y, Liu G. Protective Effect of Barbaloin in a Rat Model of Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Through the Regulation of the CNPY2 \rightarrow PERK Pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019. IF:2.928

23. Li H, Xia T, Guan Y, et al. Sevoflurane Regulates Glioma Progression by Circ_0002755/miR-628-5p/MAGT1 Axis[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, 12: 5085. IF:2.886
24. Cheng F, Yu J, Zhang X, et al. CircSEC31A Promotes the Malignant Progression of Non-Small Cell Lung Cancer Through Regulating SEC31A Expression via Sponging miR-376a[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, Volume 12:11527-11539. IF:2.886
25. Sanjeev S, Murthy M K, Devi M S, et al. Isolation, characterization, and therapeutic activity of bergenin from marlberry (*Ardisia colorata* Roxb.) leaf on diabetic testicular complications in Wistar albino rats[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019: 1-20. IF:2.8
26. Dede A, Arslanyolu M. The in vivo *Tetrahymena thermophila* extracellular glucose drop assay for characterization of mammalian insulin activity[J]. *European Journal of Protistology*, 2021, 79(1):125803. IF:2.432
27. Wang F, Chen H, Chen Y, et al. Diet-induced obesity is associated with altered expression of sperm motility-related genes and testicular post-translational modifications in a mouse model[J]. *Theriogenology*, 2020. IF:2.094
28. Bhargava P, Verma V K, Malik S, et al. Hesperidin Regresses Cardiac Hypertrophy by Virtue of PPAR- γ Agonistic, Anti-Inflammatory, Antiapoptotic, and Antioxidant Properties[J]. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 2019: e22283. IF:1.837
29. Adeyemi W J, Abdussalam T A, Abdulrahim A, et al. Elevated, sustained, and yet reversible biotoxicity effects of lead on cessation of exposure: Melatonin is a potent therapeutic option[J]. *Toxicology and Industrial Health*, 2020, 36(7): 477-486. IF:1.708
30. Ustunova S, Takir S, Yilmazer N, et al. Hydrogen sulphide and nitric oxide cooperate in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart[J]. *in vivo*, 2020, 34(5): 2507-2516. IF:1.541