

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ023

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 GBQ162)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		无要求
	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 μ L 不同浓度标准品，加到对应的标准孔中
测定孔：取 50 μ L 待测样本，加入到测定孔中。
- ② 向①中标准孔、测定孔加入 50 μ L 显色剂工作液。
- ③ 酶标仪振板 10 s，37 $^{\circ}$ 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(μ L)	50	--
待测样本(μ L)	--	50
显色剂工作液(μ L)	50	50
酶标仪振板 10 s，37 $^{\circ}$ 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：GBQ162)。

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:

$$\text{GLU 含量} = (\Delta F - b) \div a \times f$$

($\mu\text{mol/L}$)

细胞样本中葡萄糖(GLU)的含量计算公式:

$$\text{GLU 含量} = (\Delta F - b) \div a \times f \div C_{\text{pr}}$$

($\mu\text{mol/gprot}$)

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

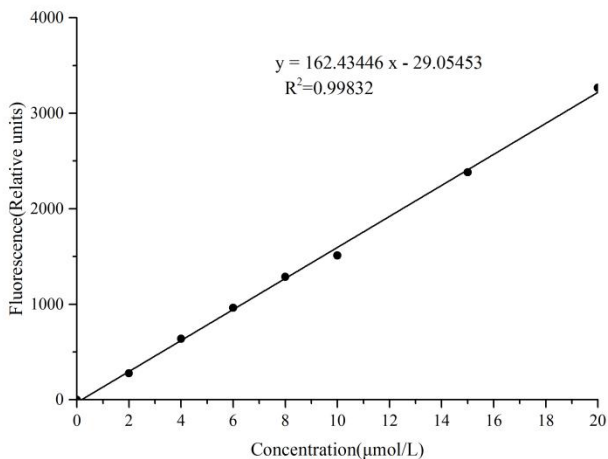
检测范围	0.1-20 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	2.8 %
灵敏度	0.1 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	1.7 %
平均回收率	99 %		

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):



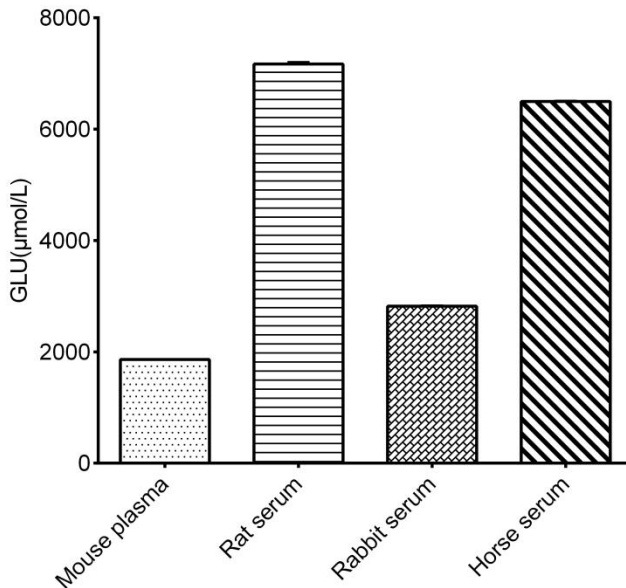
附录2 实例分析

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?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