

CheKine™ Pro 葡萄糖含量检测试剂盒（荧光法）

Cat #: KTB9300

Size: 48 T/48 S

96 T/96 S

	葡萄糖含量检测试剂盒（荧光法）		
REF	货号：KTB9300	LOT	批号：见产品标签
	检测范围：0.1-50 μ M		灵敏度：0.1 μ M
	适用样本：动植物组织、细胞、血清（浆）、唾液、尿液、体液		
	荧光激发/发射：Ex/Em=535/590 nm		
	保质期：-20℃，避光保存 6 个月		

原理

葡萄糖是几乎所有生物体的主要能量来源。血糖水平是许多代谢性疾病的关键诊断参数。葡萄糖的检测在研究和药物发现过程中都非常重要。CheKine™ Pro 葡萄糖含量检测试剂盒（荧光法）可检测动植物组织，细胞、血清（浆）、唾液、尿液、体液等生物样本。在该试剂盒中，葡萄糖氧化酶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（Ex/Em=535/590 nm），与葡萄糖的量成正比。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Assay Buffer	100 mL	100 mL×2	-20℃
Reagent I	35 μ L	70 μ L	-20℃，避光保存
Reagent II	10 μ L	20 μ L	-20℃，避光保存
Reagent III	70 μ L	140 μ L	-20℃，避光保存
Standard (400 nmol/mL)	400 μ L	400 μ L	-20℃，避光保存

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 荧光酶标仪(激发波长 535 nm，发射波长 590 nm)
- 96 孔全黑板、可调节式移液枪及枪头
- 恒温箱、制冰机、低温离心机
- 去离子水

• 匀浆器或研钵（如果是组织样本）

试剂准备

Assay Buffer: 即用型；使用前，平衡到室温。-20℃保存。

Reagent I: 即用型；使用前，平衡到室温。-20℃避光保存。用不完的试剂-20℃避光分装保存 6 个月，避免反复冻融。

注意：Reagent I 有毒，建议在通风橱进行实验。

Reagent II: 即用型；-20℃避光保存。

Reagent III: 即用型；-20℃避光保存。

Working Reagent: 每孔准备 50 μL 工作液，现配现用。按照 Assay Buffer: Reagent I: Reagent II: Reagent III=4,840 μL: 50 μL: 10 μL: 100 μL 的比例，混合均匀。

Standard (400 nmol/mL): 即用型；使用前，平衡到室温。-20℃避光保存。用不完的试剂-20℃避光分装保存 6 个月，避免反复冻融。

标准品制备：
4 nmol/mL 标准品： 10 μL Standard 用 990 μL Assay Buffer 稀释；使用 4 nmol/mL 标准品，按照下表所示，进一步稀释成标准品：

序号	Standard 体积 (μL)	Assay Buffer 体积 (μL)	浓度 (nmol/mL)
Std.1	12.5 μL 4 nmol/mL Standard	987.5	50
Std.2	500 μL of Std.1 (50 nmol/mL)	500	25
Std.3	500 μL of Std.2 (25 nmol/mL)	500	12.5
Std.4	500 μL of Std.3 (12.5 nmol/mL)	500	6.25
Std.5	500 μL of Std.4 (6.25 nmol/mL)	500	3.125
Std.6	500 μL of Std.5 (3.125 nmol/mL)	500	1.5625
Std.7	500 μL of Std.6 (1.5625 nmol/mL)	500	0.78125
Blank	0	500	0

注意：每次实验，请使用新配制的标准品；配制好的标准品需要在 4 h 之内使用。

样本制备

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在 -80℃ 下保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Assay Buffer，用匀浆器或研钵冰浴匀浆，10,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

2. 细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1 mL Assay Buffer，冰浴超声波破碎细胞 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 10,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

3. 血清（浆）等液体样本：10,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

在进行检测前，请依据下表对样本进行稀释，稀释液为 Assay Buffer（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
胡萝卜	100-300	兔肝脏	100-400
小鼠肌肉	5-20	HT29 细胞	5-20
胎牛血清	100-300	Jurkat 细胞培养液	50-200



唾液	1-3	尿液	2-5
----	-----	----	-----

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用 **Abbkine** 货号：**KTD3001** 的蛋白质定量试剂盒（**BCA 法**）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 荧光酶标仪预热 30 min 以上，调节激发波长到 535 nm，发射波长到 590 nm。
2. 操作表（下述操作在 96 孔全黑板中操作）：

试剂	空白孔（μL）	标准孔（μL）	测定孔（μL）
样本	0	0	50
Standard	0	50	0
Assay Buffer	50	0	0
Working Reagent	50	50	50

充分混匀，37℃反应 15 min，记录各孔的荧光值 RFU，荧光激发波长 535 nm，荧光发射波长 590 nm，空白孔记为 RFU_{空白}，标准孔记为 RFU_{标准}，测定孔记为 RFU_{测定}。计算 $\Delta RFU_{测定} = RFU_{测定} - RFU_{空白}$ ， $\Delta RFU_{标准} = RFU_{标准} - RFU_{空白}$ 。

注意：空白管和标准管只需做 1-2 次。实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度做预实验。根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：**0.1-50 μM**，选择合适的稀释倍数对样本进行检测。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 x 轴， $\Delta RFU_{标准}$ 为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将 $\Delta RFU_{测定}$ 带入方程得到 x (nmol/mL)。

2. 葡萄糖含量的计算：

- (1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{葡萄糖}(\text{nmol}/\text{mg prot})=\text{x}\div\text{Cpr}\times\text{F}$$

- (2) 按样本鲜重计算：

$$\text{葡萄糖}(\text{nmol}/\text{g 鲜重})=\text{x}\div(\text{W}\div\text{V}_{\text{样总}})\times\text{F}=\text{x}\div\text{W}\times\text{F}$$

- (3) 按照细胞数量计算

$$\text{葡萄糖}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell})=\text{x}\div(\text{n}\div\text{V}_{\text{样总}})\times\text{F}=\text{x}\div\text{n}\times\text{F}$$

- (4) 按样本体积计算：

$$\text{葡萄糖}(\text{nmol}/\text{mL})=\text{x}\times\text{F}$$

$V_{\text{样总}}$ ：加入 Assay Buffer 体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；n：细胞数量，以万计；F：样本稀释倍数。

注意事项

1. Reagent I 具有光敏性，使用和保存需严格避光。
2. 如果 Working Reagent 出现红色，可先对 Standard 进行检测，若 Blank 孔荧光值大于 Std.7 (0.78125 nmol/mL)，则 Working Reagent 失效，反之可以继续使用。
3. 每次检测都需要建立新的标准曲线。
4. 如果 RFU_{测定} 较低或 $\Delta RFU_{测定}$ 为负值，可适当减少样本稀释倍数或延长反应时间，但不得超过 30 min。
5. 如果样本测不出值，建议取新鲜样本，重新检测。

结果展示

以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

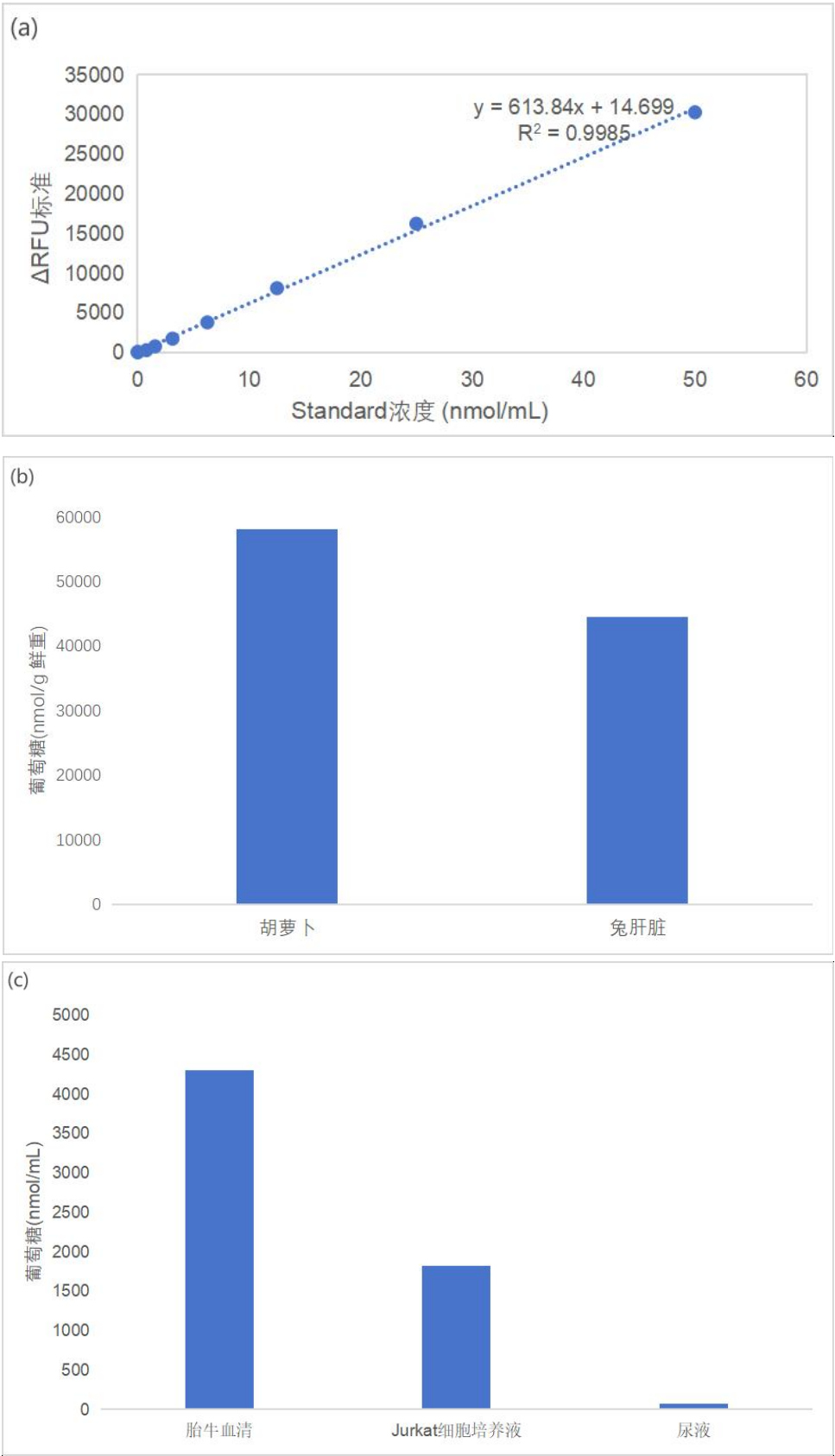


Figure 1. (a)葡萄糖标准曲线。(b)本试剂盒测定胡萝卜和兔肝脏中葡萄糖的含量。(c)本试剂盒测定胎牛血清、Jurkat 细胞培养液和尿液中葡萄糖的含量。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB9050	CheKine™ Pro 丙二醛（MDA）含量检测试剂盒（荧光法）
KTB9041	CheKine™ Pro 过氧化氢（H ₂ O ₂ ）含量检测试剂盒（荧光法）
KTB9042	CheKine™ Pro 过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（荧光法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

