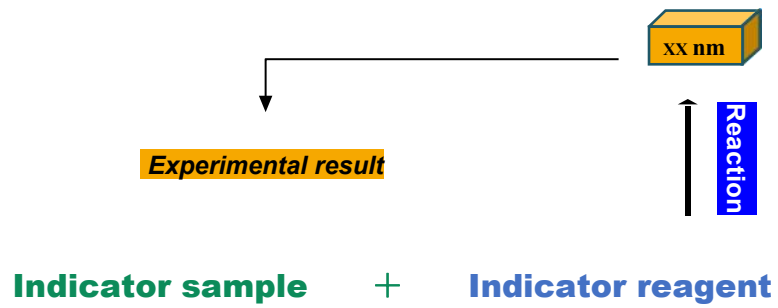


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

海藻糖含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

测定意义

海藻糖存在于大量有机体中，包括细菌、藻类、酵母、植物、昆虫和其他无脊椎动物。由于海藻糖具有独特的不同于其他碳水化合物的生物学特性，能在干旱、高温、脱水、冷冻、高渗透压及毒性物质等恶劣环境下保护生物体细胞蛋白质、脂肪、糖类、核酸等组分不受损害。

测定方法采用蒽酮比色法。具有灵敏度高、简便快捷、适用于微量样品的测定等优点。但是蒽酮比色法也存在一定缺陷，如果样本中含有可溶性糖，则会影响测定。本试剂盒建议用于除海藻糖外不含其他可溶性糖样本的测定。

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、浓硫酸和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃保存	-
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	含 10mg 海藻糖

操作步骤：

一、海藻糖提取：

- 1、细菌或细胞处理：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率 20%，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次），室温静置 45min，振荡 3~5 次，冷却后，8000g，常温离心，取上清。
- 2、组织的处理：称取约 0.1g 样本，常温研碎，加入 1mL 提取液，室温静置 45min，振荡 3~5 次，冷却后，8000g，常温离心，取上清。
- 3、血清（浆）的处理：吸取约 100 μ L 血清（浆），加入 0.9mL 提取液，室温静置 45min，振荡 3~5 次，冷却后，8000g，常温离心，取上清。
- 4、标准品的处理：标准品用 1mL 双蒸水溶解，溶液浓度为 10mg/mL，稀释到 0.1、0.08、0.06、0.04、0.02、0mg/mL。

二、测定操作表：

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 620nm，蒸馏水调零。
- 2、调节水浴锅至 95 度。
- 3、工作液的配制：临用前在每瓶试剂一中加入 16mL 蒸馏水后，缓慢加入 64mL 浓硫酸，不断搅拌，充分溶解，待用。用不完的试剂 4℃保存一周。
- 4、标准曲线的建立：取 0.25mL 标准液和 1mL 工作液至 EP 管中，95 度水浴 10min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，取 1mL 至比色皿中，在 620nm 处测吸光值 A。根据标准样本的浓度（y）和吸光度（x）建立标准曲线。
- 5、样本测定：取 0.25mL 样本和 1mL 工作液至 EP 管中，95 度水浴 10min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，取 1mL 至比色皿中，在 620nm 处测吸光值 A。

注意：若吸光值大于 1，请将样本用提取液稀释后再测定，计算公式中乘以相应的稀释倍数。

三、海藻糖含量计算：

- 1、根据标准曲线计算样本中海藻糖的含量 y（mg/mL）。

- 2、按样本鲜重计算：

海藻糖含量 (mg/g 鲜重) = $V1 \times y \div (W \times V1 \div V2) = y \div W$ 。

- 3、按样本蛋白浓度计算：

海藻糖含量 (mg/mg prot) = $V1 \times y \div (V1 \times Cpr) = y \div Cpr$ 。

- 4、按细菌或细胞数量计算：

海藻糖含量 ($\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}$) = $(1000 \times V1 \times y) \div (500 \times V1 \div V2) = 2 \times y$

- 5、按血清（浆）体积含量计算

海藻糖含量 (mg/mL) = $(V1 \times y) \div (V3 \times V1 \div V2) = 10 \times y$

1000: 1mg/mL=1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$; V1: 加入反应体系中样本体积, 0.25 mL; V2: 提取液总体积, 1mL;

V3: 加入血清（浆）体积, 0.1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。