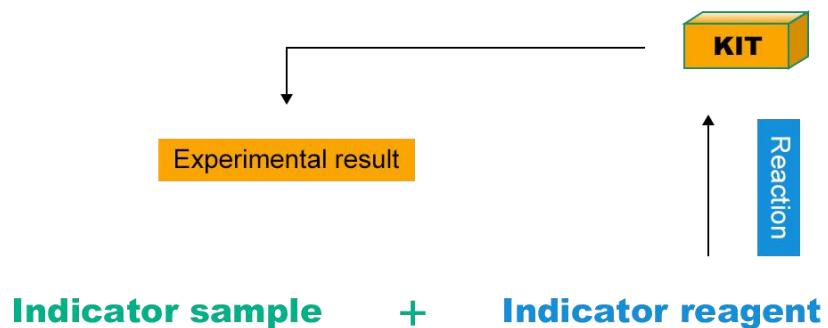


上海苗彩生物科技有限公司

ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0421

Size: 100T/96S

## 海藻糖含量(Trehalose) 检测试剂盒说明书

### 微量法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、测定意义：

海藻糖广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。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。

#### 二、测定原理：

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。

#### 三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、浓硫酸和蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100ml ×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	粉剂 ×1 瓶	4°C 保存	



+86(21)65681082



zcibio@163.com



www.zcielisa.com

## 五、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；按照细菌或细胞数量 ( $10^4$  个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20% 或 200W，超声 3S，间隔 10S，重复 30 次），室温静置 45min，振荡 3~5 次，冷却后，8000g，25°C 离心 10min，取上清。
- 2、组织的处理：按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1 : 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），冰浴匀浆，室温静置 45min，振荡 3~5 次，冷却后，8000g，25°C 离心 10min，取上清。
- 3、血清（浆）的处理：按照血清（浆）体积 (mL): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例（建议取 0.1mL 血清（浆）加入 1mL 提取液），冰浴匀浆，室温静置 45min，振荡 3~5 次，冷却后，8000g，25°C 离心 10min，取上清。

## 六、测定步骤：

- 1、分光光度计或酶标仪预热 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：临用前在试剂一中加入 3.75mL 蒸馏水后，缓慢加入 21.25mL 浓硫酸，不断搅拌，充分溶解，待用；用不完的试剂 4°C 保存一周；
- 4、样本测定：取 60  $\mu$ L 样本和 240  $\mu$ L 工作液至 EP 管中，95 度水浴 10 min（盖紧，防止水分散失），自然冷却至室温，取 200uL 至微量石英比色皿或 96 孔板中，在 620 nm 波长下记录测定吸光度值 A。

注意：由于工作液具有强腐蚀性，请谨慎操作。

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。



+86(21)65681082



zcibio@163.com



www.zcielisa.com

## 七、海藻糖含量计算：

### a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、标准条件下测定回归方程为  $y = 8.8976x + 0.0729$ ;  $x$  为标准品浓度 (mg/mL),  $y$  为吸光值。

### 2、按样本鲜重计算：

海藻糖含量 (mg/g 鲜重) =  $[V1 \times (A - 0.0729) \div 8.8976] \div (W \times V1 \div V2)$

=  $0.112 \times (A - 0.0729) \div W$ 。

### 3、按样本蛋白浓度计算：

海藻糖含量 (mg/mg prot) =  $[V1 \times (A - 0.0729) \div 8.8976] \div (V1 \times Cpr)$

=  $0.112 \times (A - 0.0729) \div Cpr$ 。

### 4、按细菌或细胞密度计算：

海藻糖含量 ( $\mu\text{g}/10^4\text{cell}$ ) =  $[1000 \times V1 \times (A - 0.0729) \div 8.8976] \div (500 \times V1 \div V2)$

=  $0.224 \times (A - 0.0729)$

### 5、血清 (浆) 海藻糖含量计算

海藻糖含量 (mg/mL) =  $[V1 \times (A - 0.0729) \div 8.8976] \div (V3 \times V1 \div V2) = 1.12 \times (A - 0.0729)$

1000 : 1mg/mL = 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; V1: 加入反应体系中样本体积, 60 $\mu\text{L}$  = 0.06mL; V2: 加入提取液总体积 1mL; V3: 加入血清 (浆体积), 0.1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样品质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

### b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1、标准条件下测定回归方程为  $y = 4.4488x + 0.0729$ ;  $x$  为标准品浓度 (mg/mL),  $y$  为吸光值。

### 2、按样本鲜重计算：

海藻糖含量 (mg/g 鲜重) =  $[V1 \times (A - 0.0729) \div 4.4488] \div (W \times V1 \div V2)$

=  $0.224 \times (A - 0.0729) \div W$ 。



+86(21)65681082



zcibio@163.com



www.zcielisa.com

### 3、按样本蛋白浓度计算：

$$\text{海藻糖含量 (mg/mg prot)} = [V1 \times (A - 0.0729) \div 4.4488] \div (V1 \times C_{pr})$$

$$= 0.224 \times (A - 0.0729) \div C_{pr}.$$

### 4、按细菌或细胞密度计算：

$$\text{海藻糖含量} (\mu\text{g}/10^4 \text{cell}) = [1000 \times V1 \times (A - 0.0729) \div 4.4488] \div (500 \times V1 \div V2)$$

$$= 0.448 \times (A - 0.0729)$$

### 5、血清（浆）海藻糖含量计算

$$\text{海藻糖含量 (mg/mL)} = [V1 \times (A - 0.0729) \div 4.4488] \div (V3 \times V1 \div V2) = 2.24 \times (A - 0.0729)$$

1000 : 1mg/mL = 1000μg/mL; V1: 加入反应体系中样本体积, 60 μL = 0.06mL; V2: 加入提取液总体积 1mL; ; V3: 加入血清（浆体积）, 0.1mL; C<sub>pr</sub>: 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。

注意：最低检测限为 10 μg/g 鲜重或 0.1 μg/ mg prot



+86(21)65681082



zcibio@163.com



www.zcielisa.com