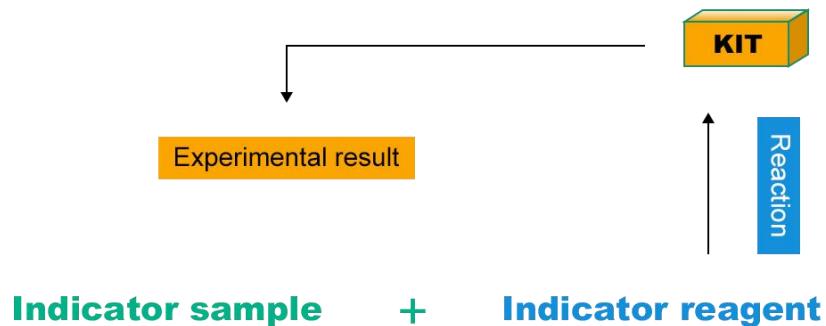


上海苗彩生物科技有限公司

ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0699

Size: 50T/48S

海藻糖含量(Trehalose) 检测试剂盒说明书

分光光度法

*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、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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 50ml × 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 7.5mL 蒸馏水后，缓慢加入 42.5mL 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 0.25mL 样本和 1mL 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，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：

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：

$$\begin{aligned}\text{海藻糖含量} (\text{mg/g 鲜重}) &= [V_1 \times (A - 0.0729) \div 8.8976] \div (W \times V_1 \div V_2) \\ &= 0.112 \times (A - 0.0729) \div W.\end{aligned}$$

3、按样本蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned}\text{海藻糖含量} (\text{mg/mg prot}) &= [V_1 \times (A - 0.0729) \div 8.8976] \div (V_1 \times C_{\text{pr}}) \\ &= 0.112 \times (A - 0.0729) \div C_{\text{pr}}.\end{aligned}$$

4、按细菌或细胞密度计算：

$$\begin{aligned}\text{海 藻 糖 含 量} (\mu\text{g}/10^4 \text{cell}) &= [1000 \times V_1 \times (A - 0.0729) \div 8.8976] \div (500 \times V_1 \div V_2) \\ &= 0.224 \times (A - 0.0729)\end{aligned}$$

5、血清（浆）海藻糖含量计算

$$\text{海藻糖含量} (\text{mg/mL}) = [V_1 \times (A - 0.0729) \div 8.8976] \div (V_3 \times V_1 \div V_2) = 1.12 \times (A - 0.0729)$$

1000: $1\text{mg/mL} = 1000\mu\text{g/mL}$; V_1 : 加入反应体系中样本体积, 0.25 mL ; V_2 : 加入提取液总体积 1mL ; V_3 : 加入血清（浆体积）， 0.1mL ; C_{pr} : 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 $10\mu\text{g/g 鲜重}$ 或 $0.1\mu\text{g/mg prot}$



+86(21)65681082



zcibio@163.com



www.zcielisa.com