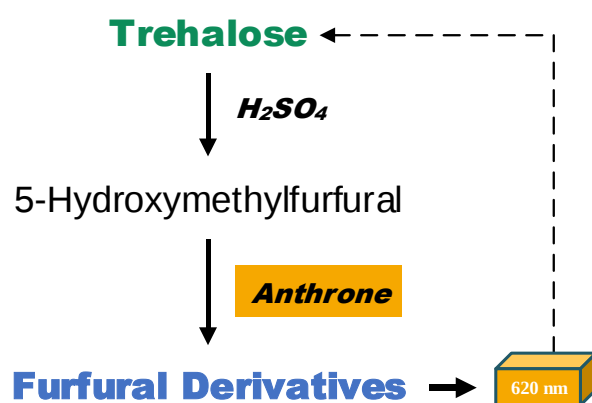




海藻糖含量检测试剂盒
Trehalose Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



海藻糖含量检测试剂盒

Trehalose Content Assay Kit

一、产品描述

海藻糖是由两个吡喃型葡萄糖单体以 α -1,1 糖苷键连接而成的双糖，作为应对环境变化的应激代谢产物，对生物体和生物分子具有独特的非特异性保护功能，在食品、医药、农业和化妆品等领域具有广泛应用。

海藻糖在强酸性条件下脱水生成 5-羟甲基糠醛，能够与蒽酮反应生成蓝绿色糠醛衍生物，产物在 620 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测海藻糖的含量。

特别说明：本产品仅可用于除海藻糖外不含其他可溶性糖样本的测定。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
显色液	粉剂×2 瓶	4°C避光保存	使用前加入 3 mL 蒸馏水，再缓慢加入 12 mL 浓硫酸充分溶解 (未使用完的试剂 4°C可保存一周)
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 海藻糖标准品)	4°C保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 海藻糖标准液)
标准稀释液的制备：将 10 mg/mL 海藻糖标准液使用蒸馏水稀释至 0.3、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 mg/mL 即为标准稀释液。			

需自备试剂：浓硫酸 (H_2SO_4 , MW = 98.078, CAS: 7664-93-9)

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	1.0	1.0	1.0	0.1	0.05	0.025
标准液体积 (μL)	100	300	200	100	200	200	200
蒸馏水体积 (μL)	900	700	800	900	200	200	200
稀释后浓度 (mg/mL)	1.0	0.3	0.2	0.1	0.05	0.025	0.0125

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴、浓硫酸和蒸馏水。

1.样品处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，室温静置 45 min（期间振荡混匀 3-5 次），8000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，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 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎细菌或细胞（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），室温静置 45 min（期间振荡混匀 3-5 次），8000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

③血清（浆）、培养液等液体样本：吸取 100 μ L 液体样本，加入 900 μ L 提取液，充分混匀，室温静置 45 min（期间振荡混匀 3-5 次），8000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

2.测定步骤

①分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 620 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
待测样本	60	-	-
标准稀释液	-	60	-
蒸馏水	-	-	60
显色液	240	240	240
95°C显色 10 min（密封以防止水分散失）			
反应结束后冷却至室温			

吸光值测定：取 200 μ L 反应液于微量玻璃比色皿或 96 孔板中，测定 620 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.3、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 mg/mL 为横坐标（x），对应的 ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x（mg/mL）。

3.海藻糖含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{海藻糖含量 (mg/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{提}}} = \frac{x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{海藻糖含量 (mg/g)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times V_{\text{提}}}{W \times V_{\text{样}}} = \frac{x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{海藻糖含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times V_{\text{提}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}}} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{海藻糖含量 (mg/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times V_{\text{提}}}{V_{\text{液}} \times V_{\text{样}}} = 10 \times x$$

注释： V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.06 mL；V 提：待测样本总体积，1 mL；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

①若 A 测定超出标准线性吸光值范围：高于最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需特别防护；

③本产品仅可用于除海藻糖外不含其他可溶性糖样本的测定；

④待测样本不能用于蛋白浓度测定，组织样本需使用 PBS 单独提取后再进行测定；

⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

