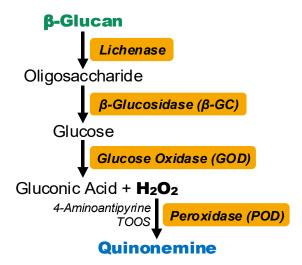
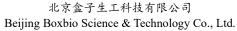


β-葡聚糖含量检测试剂盒 β-Glucan Content Assay Kit

























Catalog Number **AKSU096M**Storage Temperature **-20°C**Size **120T/50S**

Microanalysis Methods

β-葡聚糖含量检测试剂盒

β-Glucan Content Assay Kit

一、产品描述

β-葡聚糖是由葡萄糖单体通过 β-糖苷键连接形成的多聚糖,多存在于真菌、细菌和植物的细胞壁中,其结构稳定且具有较高的生物活性,可以提升细胞内抗氧化酶的活性,并降低氧自由基和氧化应激产物水平,其独特的结构和多样的生物功能使其在多个领域中都具有重要的研究价值和应用潜力。

β-葡聚糖由地衣聚糖酶水解生成寡糖,β-葡萄糖苷酶进一步将寡糖水解生成葡萄糖,葡萄糖氧化酶将葡萄糖氧化为葡萄糖酸并释放 H_2O_2 ; 过氧化物酶催化 H_2O_2 氧化 4-氨基安替比林和苯酚类似物,生成紫色化合物,产物在 540 nm 处具有特征吸收峰,通过吸光值变化即可定量检测 β-葡聚糖的含量。

二、产品内容

| 名称 | 试剂规格 | 储存条件 | 使用说明及注意事项 | | |
|-----|--------------|---------|--|--|--|
| 试剂一 | 液体 3 mL×1 瓶 | 4℃保存 | - | | |
| 试剂二 | 液体 50 mL×1 瓶 | 4℃保存 | - | | |
| 试剂三 | 液体 40 μL×2 支 | 4℃避光保存 | 使用前每支加入 1.6 mL 试剂二充分溶解 (分装后-20℃可保存1个月,避免反复冻融) | | |
| 试剂四 | 液体 60 mL×1 瓶 | 4℃保存 | - | | |
| 试剂五 | 液体 5 mL×1 瓶 | 4℃保存 | - | | |
| 试剂六 | 粉剂×1 瓶 | 4℃避光保存 | 使用前加入2mL 试剂五充分溶解 (分装后-20℃可保存1个月,避免反复冻融) | | |
| 试剂七 | 粉剂×1 瓶 | -20℃保存 | 使用前加入 40 mL 试剂九充分溶解 (配制后 4℃可保存 1 个月) | | |
| 试剂八 | 液体 40 mL×1 瓶 | 4°C避光保存 | - | | |
| 试剂九 | 液体 45 mL×1 瓶 | 4℃保存 | - | | |
| 标准液 | 液体 1 mL×1 支 | 4℃保存 | 10 mg/mL 葡萄糖标准液 | | |

标准稀释液的制备(现用现配): 使用前将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用蒸馏水稀释至 0.20、0.16、0.08、0.04、0.02、0.01 mg/mL 即为标准稀释液。



三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂:酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、 台式离心机、30-50 目筛、恒温水浴/培养箱、2 mL 离心管或冻存管和蒸馏水。

1.待测样本的制备(可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

1.1 组织样本

- ①将样本烘干至恒重,研磨或粉碎后过 30-50 目筛,称取 15 mg 粉末样本至 2 mL 离心管中,加入 50 μL 试剂一涡旋振荡分散后,加入 800 μL 试剂二充分混匀,95℃处理 3 min (每隔 1 min 充分混匀一次,不能产生凝胶状,否则需重新制备),冷却至室温;
 - ②加入 50 μL 试剂三充分混匀, 50℃处理 60 min (每隔 10 min 充分混匀一次);
 - ③加入1 mL 试剂四充分混匀, 8000 g 常温离心 10 min, 取上清液即为待测样本。

1.2 液体样本

- ①吸取 200 μL 液体样本至 2 mL 离心管中, 加入 650 μL 试剂二充分混匀, 95℃处理 3 min (每隔 1 min 充分混匀一次, 不能产生凝胶状, 否则需重新制备), 冷却至室温; 注: 若液体样本浑浊, 建议 8000 g 常温离心 10 min 后, 吸取 200 μL 上清液至 2 mL 离心管中, 再加入试剂二并进行后续处理。
 - ②加入 50 μL 试剂三充分混匀, 50℃处理 60 min (每隔 10 min 充分混匀一次);
 - ③加入1 mL 试剂四充分混匀, 8000 g 常温离心 10 min, 取上清液即为待测样本。

注:50℃和95℃处理过程中注意密封以防止水分散失,推荐使用螺纹盖离心管或冻存管。

2.测定步骤

- ①酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长至 540 nm。
- ②检测工作液的制备(现配现用):根据使用量按照试剂七:试剂八=1:1的体积比配制。
- ③标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用蒸馏水稀释至 0.20、0.16、0.08、0.04、0.02、0.01 mg/mL 即为标准稀释液。

| 序号 | A | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--------------|-----|------|------|------|------|------|------|
| 稀释前浓度(mg/mL) | 10 | 1.0 | 1.0 | 0.16 | 0.08 | 0.04 | 0.02 |
| 标准液体积(μL) | 100 | 200 | 160 | 500 | 500 | 500 | 500 |
| 蒸馏水体积(μL) | 900 | 800 | 840 | 500 | 500 | 500 | 500 |
| 稀释后浓度(mg/mL) | 1.0 | 0.20 | 0.16 | 0.08 | 0.04 | 0.02 | 0.01 |

④在离心管中依次加入下列试剂:

| 试剂 | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 | | | | |
|--------------------|------|------|------|------|--|--|--|--|
| PA JIV | (µL) | (μL) | (μL) | (μL) | | | | |
| 待测样本 | 30 | 30 | - | - | | | | |
| 标准稀释液 | - | - | 30 | - | | | | |
| 蒸馏水 | - | - | - | 30 | | | | |
| 试剂五 | - | 30 | 30 | 30 | | | | |
| 试剂六 | 30 | | | - | | | | |
| 充分混匀, 50℃反应 40 min | | | | | | | | |
| 检测工作液 | 540 | 540 | 540 | 540 | | | | |
| 充分混匀, 37℃反应 15 min | | | | | | | | |

吸光值测定: 吸取 200 μ L 反应液至 96 孔板中,测定 540 nm 处吸光值,记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白; 计算 Δ A 测定=A 测定-A 对照, Δ A 标准=A 标准-A 空白。注: 每个样本均需设一个对照管,各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立: 以 0.20、0.16、0.08、0.04、0.02、0.01 mg/mL 为横坐标(x),以其对应的 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 测定代入公式中得到 x (mg/mL)。

3.β-葡聚糖含量计算

①按组织样本质量计算

β-葡聚糖含量
$$(mg/g) = \frac{x \times V \cancel{\#} \cancel{\otimes} \times D}{W} = \frac{1.9 \times x \times D}{W}$$

②按液体样本体积计算

$$β$$
-葡聚糖含量(mg/mL) = $\frac{x \times V \not + \& \times D}{V \not + \& \times D}$ = 9.5×x×D

注释: V 样总: 待测样本总体积, 1.90 mL; V 液: 液体样本提取过程中吸取液体样本的体积, 0.20 mL; W: 样本质量, g; D: 待测样本稀释倍数, 若未稀释即为 1。

四、注意事项

- ①若 A 测定超出标准吸光值线性范围: 高于最高值建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进 行测定; 低于最低值建议制备更高浓度的样本后再进行测定, 计算时相应修改;
- ②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.

















