



海藻糖含量(酶法)试剂盒

规格：100 管/48 样

检测波长：505nm

编号：TW57753

检测原理：微量法

注意

正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定。

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。

测定原理

通过海藻糖酶特异性水解海藻糖分解成两分子葡萄糖，再用葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化成葡萄糖酸，并产生过氧化氢；过氧化物酶催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚，生成有色化合物，在 505 nm 有特征吸收峰。

自备仪器和用品

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、研钵和蒸馏水

试剂的组成和配制

试剂一：液体 0.55mL×1 支，-20℃避光保存；

试剂二：液体 10ml×1 瓶，-20℃避光保存；

试剂三：液体 10ml×1 瓶，4℃避光保存；（若出现结冰现象，可 37℃水浴溶解后使用）



标准品：0.6mg/mL 海藻糖糖溶液 5mL×1 瓶，4℃避光保存；

样本提取

- 1、组织的处理：称取 0.1g 组织样本加入 1mL 蒸馏水研磨，全部转移到 EP 管中 90℃ 水浴加热 10min。取出冷却至室温后，25℃，10000×g 离心 10min，取 上清液待测。
- 2、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 (10⁴个)：蒸馏水体积 (mL) 为 500~1000：1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 蒸馏水)，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)，90℃水浴 10 分钟 (盖紧，防止水分散失)，冷却后，8000g，25℃离心 10min，取上清液备用。
- 3、液体样本：澄清的液体可直接测定，若浑浊则离心取上清测定。

测定步骤

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，蒸馏水调零。
- 2、混合试剂的配制：使用前将试剂二和试剂三 1:1 等体积混合，用多少配多少。
- 3、加样表 (在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂)：

试剂 (μL)	空白管	标准管	测定管	对照管
样本			20	20
标准品		20		
蒸馏水	20			10
混合试剂	180	180	180	180
试剂一	10	10	10	
混匀，置 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 避光孵育 30min 后，于 505nm 波长处读取吸光度。空白管、标准管、测定管和对照管吸光值分别记为 A 空白、A 标准、A 测定和 A 对照。				

空白管和标准管只要做一管。



海藻糖含量计算

1、按样本鲜重计算

海藻糖含量 (mg/g 鲜重) = (A 测定-A 对照)÷(A 标准-A 空白)×C×V÷W

2、按细菌或细胞密度计算

海藻糖含量 (mg/ 10⁴ cell)= (A 测定-A 对照)÷(A 标准-A 空白)×C×V÷500

3、按体积计算

海藻糖含量 (mg/mL)= (A 测定-A 对照)÷(A 标准-A 空白)×C

C 标准：标准管浓度，0.6mg/mL；V：加入提取液体积，1mL；W：样本鲜重，g；500：

细菌或细胞总数，500 万。

预实验的意义

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测，以免造成试剂盒和样本的浪费（比如低表达处理的样本）；
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程，尤其是初次使用生化试剂盒测定；
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适；
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题，以便于及时作出调整；
- 5、通过 3 - 5 组预实验，判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。