



## 海藻糖含量(酶法)试剂盒

规格： 100 管/96 样

检测波长： 505nm

编号： TW57754

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 1.2mL×1 支，-20℃避光保存；

试剂二：液体 20ml×1 瓶，-20℃避光保存；



试剂三：液体 20ml×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（10<sup>4</sup>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/ 10<sup>4</sup> 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。