北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www. bjoka- vip. com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

海藻糖含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号： D17058

规 格 ： 50 T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂一	粉剂 ×2 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	液体 15mL×1 瓶	2-8℃ 保存
标准品	粉剂 ×1 支	2-8℃ 保存

溶液的配制：

1、工作液的配制：临用前取 1 瓶试剂一加入 6.5mL 试 剂 二 （ 约 3 0T),充分溶解后使用，如难溶解，可振荡溶解，用不完的试剂 2-8° ℃ 可保存 1 周。

2、 标准品：临用前加 1mL 蒸馏水充分溶解，配制为 10mg/mL 的海藻糖标准溶液， 2-8℃ 保存 4 周。

3、0.05 mg/mL 海藻糖标准品的配制：取 50μ L 10mg/mL 海藻糖标准品加入 950μ L 蒸馏水，充分混匀，配制成 0.5mg/mL 海藻糖标准品，再取 100 μ L0.5mg/mL 海藻糖标准品加入 900 μ L 蒸馏水即 0.05mg/mL 海藻糖标准品。（实验中每管需要 250μL, 为减小实验误差，故配制大体积。）

产品说明：

海藻糖存在于大量有机体中，包括细菌、藻类、酵母、植物、昆虫和其他无脊椎动物。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。

测定方法采用蒽酮比色法。具有灵敏度高、简便快捷、适用于微量样本的测定等优点。但是蒽酮比色法也存在一定缺陷，如果样本中含有可溶性糖，则会影响测定。 本试剂盒建议用于除海藻糖外不含其他可溶性糖样本的测 定 。

Trehalose+H_2SO_4+Anthrone—— → **Furfural Derivatives(620nm)**

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿、研钵 / 匀浆器 / 细胞超声破碎仪、浓硫 酸 （ > 9 5 %AR) 和蒸馏水。

操作步骤：

一 、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1、 组织：按照组织质量 (g)： 提取液体积 (mL) 为 1:5~10 的比例（建议称取约 0 . 1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，常温静置 45min, 振荡 3~5 次，冷却后， 8000g, 常温离心 10min, 取上清常温待测。

2、 细菌/细胞样本：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按细菌/细胞数量(10):提取液体积(mL) 为5~10:1的比例加入提取液（建议500万细菌/细胞加入1.0 mL提取液），冰浴超声破碎细菌/细胞（功率200w，超声3秒，间隔10秒，重复30次），常温静置45 min，振荡3~5次，冷却后，8000 g，常温离心10 min，取上清常温待测。

3、 血清（浆）的处理：吸取约100μL血清（浆），加入0.1mL提取液，充分振荡混匀，常温静置45 min，振荡3~5次，冷却后，8000 g，常温离心10min，取上清常温待测。

二、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℃。

3、加样表（在EP管中加入下列试剂）

试剂名称（μL）	测定管	标准管	空白管
样本	250	_	_
标准品	_	250	_
蒸馏水	_	_	250
工作液	210	210	210
浓硫酸	790	790	790

充分混匀，置于95℃水浴10min（缠封口膜，防止爆盖），冷却，取1mL反应液至1mL玻璃比色皿，于620nm波长处，分别读取测定管、标准管和空白管吸光度，计算△A测定=A测定-A空白，△A标准=A标准-A空白。（空白管和标准管只要测1-2次）

注： (1)推荐使用螺旋口或带锁扣EP管，防止爆盖。(2)工作液和浓硫酸不可提前混合进行实验。

三、海藻糖含量计算

1. 按样本质量计算：

海藻糖含量(mg/g 质量)=C标准×△A测定÷△A标准×V样本÷(W×V样本÷V提取)×F

=0.05×△A测定÷△A标准÷W×F

2. 按样本蛋白浓度计算：

海藻糖含量(mg/mg prot)=C标准×△A测定÷△A标准×V样本÷(V样本×Cpr)×F

=0.05×△A测定÷△A标准÷Cpr×F

3. 按细菌或细胞数量计算：

海藻糖含量(μg/10⁴cell)=(1000×C标准×△A测定÷△A标准×V样本)÷(N×V样本÷V提取)×F

=50×△A测定÷△A标准÷N×F

4. 按血清（浆）体积含量计算：

海藻糖含量(mg/mL)=C标准×△A测定÷△A标准×V样本÷(V液体×V样本÷V提取)×F

=0.5×△A测定÷△A标准×F

C标准：标准管浓度，0.05mg/mL;1000：单位换算系数，1mg/mL=1000μg/mL;V样本：加入反应体系中样本体积，0.25mL;V提取：提取液总体积，1 mL;V液体：加入血清（浆）体积，0.1mL;Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL;W：样本质量，g;N：细菌或细胞总数，以10⁴计。

注意事项：

1. 浓硫酸具有强腐蚀性，请谨慎操作。

2 . 试 剂二挥发性强，使用后可缠绕封口膜封口，以防止试剂挥发过快。

3. 如需按蛋白浓度计算，需要另取样本重新提取蛋白进行测定。

4 . 若△ A测定 <0. 03，建议增大样本量后测定；若△ A测定 >1，建议用蒸馏水稀释样本后进行测定，注意同步修改计算公式。

相关发表文献：

[1]Wang S,Xie X,Che X,Lai W,Ren Y,Fan X,Hu W,Tang M,Chen H.Host-and virus-induced gene silencing of HOG1-MAPK cascade genes in Rhizophagus irregularis inhibit arbuscule development and reduce resistance of plants to drought stress.Plant Biotechnol J.2023 Apr;21(4):866-883.doi:10.1111/pbi.14006.Epub 2023 Feb 6.PMID:36609693; PMCID:PMC10037146.

[2]Gao S,Niu Q,Liu X,Zhu C,Chong J,Ren L,Zhu K,Yuan X.Cryopreservation of human erythrocytes through high intracellular trehalose with membrane stabilization of maltotriose-grafted e-poly(L-lysine).J Mater Chem B.2022Jun 15;10(23):4452-4462.doi:10.1039/d2tb00445c.PMID:35604178.

[3]Yuan G,Liu J,An G,Li W,Si W,Sun D,Zhu Y.Genome-Wide Identification and Characterization of the Trehalose-6-phosphate Synthetase(TPS)Gene Family in Watermelon(Citrullus lanatus)and Their Transcriptional Responses to Salt Stress.Int J Mol Sci.2021 Dec 28;23(1):276.doi:10.3390/ijms23010276.PMID:35008702;PMCID: PMC8745194.

[4]Xu Z,Bai J,LiL,Liang L,MaX,Ma L.Sublethal concentration of emamectin benzoate inhibits the growth of gypsy moth by inducing digestive dysfunction and nutrient metabolism disorder.Pest Manag Sci.2021 Sep;77(9):4073-4083.doi:10.1002/ps.6432.Epub 2021 May 12.PMID:33908141.

[5]de Brito SanchezG,Expósito MunozA,Chen L,Huang W,Su S,Giurfa M.Adipokinetic hormone(AKH),energy budget and their effect on feeding and gustatory processes of foraging honeybees.Sci Rep.2021 Sep 15;11(1):18311.doi: 10.1038/s41598-021-97851-x.PMID:34526585;PMCID:PMC8443544.

