还原糖含量试剂盒说明书

酶标法　96 样

一、产品说明

在糖类中，分子中含有游离醛基或酮基的单糖和含有游离醛基的二糖都具有还原性。还原性糖主要有葡萄糖、果糖、半乳糖、乳糖、麦芽糖等。

加热促进碱性溶液中 3,5-二硝基水杨酸溶液与还原糖生成棕红色氨基化合物，在 510nm 有特征吸收峰；在一定的浓度范围内，还原糖含量与 510nm 吸光度成线性关系，根据标准曲线，即可求出样品中还原糖的量。

二、自备仪器和用品

台式离心机、恒温水浴锅、酶标仪、96 孔板、移液器和蒸馏水。

三、试剂的组成和配制

试剂名称	规格	保存温度
试剂一	液体 100mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃保存

四、样本制备

建议正式实验前取 2 个样本做预测定，了解本批样本含量情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、细菌或细胞的处理：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一，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），转移到有盖离心管中（防止加热时水分散失），80℃水浴中 40min 并且振荡 8~10 次，8000g，25℃离心 10min，取上清待测。

2、组织样本：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一，匀浆，转移到有盖离心管中（防止加热时水分散失），80℃水浴中 40min 并且振荡 8~10 次，8000g ，25℃离心 10min，取上清待测。

3、液体样本：离心后直接测定或稀释适当倍数后测定。

五、测定步骤

1、 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 510nm。

2、 调节水浴锅至 95℃。

3、 在 EP 管中加入下列试剂：

试剂名称	测定管	空白管
试剂一（μL）		40
上清液（μL）	40	
试剂二（μL）	100	100
充分混匀，95℃水浴 5min（盖紧，以防止水分散失）		
蒸馏水（μL）	560	560
混匀，取 200μL 反应液于 96 孔板中，测定 510nm 处各管吸光值 A，计算△A=A 测定-A 对照		

注意：如果ΔA 大于 1.5，需要将样本用试剂一稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数（若显色后出现分层现象，可改用蒸馏水稀释）

六、还原糖含量计算

1、$y = 0.7802x - 0.0284$，$R^2 = 0.9985$；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为△A。

2、按样本鲜重计算：

还原糖(mg/g 鲜重)＝(ΔA+0.0284)÷0.7802×V1÷(W×V1÷V2)

买试剂，找沃凯
邮箱：Jack@oka-vip.com　Http://www.bjoka-vip.com　电话：010-62971590

=1.28×(ΔA+0.0284)÷W

3、按样本蛋白浓度计算：

还原糖（mg/mg prot）= (ΔA+0.0284)÷0.7802×V1÷(V1×Cpr)

=1.28×(ΔA+0.0284)÷Cpr

4、按细菌或细胞密度计算：

还原糖（μg/10^4 cell）= [1000×(ΔA+0.0284)÷0.7802×V1]÷（500×V1÷V2）

=2.56×(ΔA+0.0284)

5、按血清（浆）体积计算：

还原糖（mg/mL）= (ΔA+0.0284)÷0.7802×V1]÷V1

=1.28×(ΔA+0.0284)

1000：1mg/mL=1000μg/mL；V1：加入样本体积，0.04mL；V2：加入提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

本产品仅用于科学研究或者工业应用等非医疗目的
不可用于人类或动物的临床诊断或治疗，非药用，非食用