

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：BC0330

规格：50T/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 15 mL×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 30T），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 50μL 10mg/mL 海藻糖标准品加入 950μL 蒸馏水，充分混匀，配制成 0.5mg/mL 海藻糖标准品，再取 100μL 0.5mg/mL 海藻糖标准品加入 900μL 蒸馏水即 0.05 mg/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。



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、1mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、浓硫酸（>95%，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 0.1g 组织，加入 1mL 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（ 10^6 ）：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 1.0mL 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 45min，振荡 3~5 次，冷却后，8000g，常温离心 10min，取上清常温待测。
- 3、血清（浆）的处理：吸取约 100 μ L 血清（浆），加入 0.9mL 提取液，充分振荡混匀，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。

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（ μ L）	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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。（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：

$$\text{海藻糖含量 (mg/g 质量)} = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \times F$$

$$= 0.05 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times W \times F$$

2. 按样本蛋白浓度计算：

$$\text{海藻糖含量 (mg/mg prot)} = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times C_{\text{pr}}) \times F$$

$$= 0.05 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F$$

3. 按细菌或细胞数量计算：

$$\text{海藻糖含量 (}\mu\text{g}/10^4 \text{ cell)} = (1000 \times C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}}) \div (N \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \times F$$

$$= 50 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times F$$

4. 按血清（浆）体积含量计算：

$$\text{海藻糖含量 (mg/mL)} = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{液体}} \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \times F$$

$$= 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F$$

C 标准：标准管浓度，0.05mg/mL；1000：单位换算系数，1mg/mL=1000 μ g/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，1mL；V 液体：加入血清（浆）体积，0.1mL；C_{pr}：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细菌或细胞总数，以 10^4 计；F：样本稀释倍数。

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 ΔA 测定 <0.03 ，建议增大样本量后测定；若 ΔA 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 ϵ -poly(L-lysine). *J Mater Chem B*. 2022 Jun 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, Li L, Liang L, Ma X, 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 Sanchez G, Expósito Muñoz A, 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.

参考文献：

- [1] Tan H G, Mei Y J, Gan F M, et al. Determination of Trehalose Content by Anthrone-Sulphuric Acid Colorimetric Method [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2006, 22(1): 125-128.
- [2] Al-Naama M, Ewaze J O, Green B J, et al. Trehalose accumulation in *Baudouinia compniacensis* following abiotic stress[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2009, 63(6): 765-768.

相关系列产品：

- BC0230/BC0235 还原糖含量检测试剂盒
- BC2500/BC2505 葡萄糖含量检测试剂盒
- BC0030/BC0035 植物可溶性糖含量检测试剂盒
- BC2710/BC2715 总糖含量检测试剂盒
- BC4280/BC4285 纤维素（CLL）含量检测试剂盒

