

海藻糖含量检测试剂盒说明书

微量法

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：BC0335

规格：100T/96S

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 110 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 7 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 2.75mL 试剂二（约 55T），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 60μL，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/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、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、分光光度计或酶标仪预热 30min，波长调节至 620nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 2、调节水浴锅至 95°C。
- 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	60	-	-
标准品	-	60	-
蒸馏水	-	-	60
工作液	50	50	50
浓硫酸	190	190	190

充分混匀，置于 95°C 水浴 10min（缠封口膜，防止爆盖），冷却，取 200 μ L 反应液至微量玻璃比色皿/96 孔板，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：

$$\begin{aligned} \text{海藻糖含量}(\text{mg/g 质量}) &= C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \times F \\ &= 0.05 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times W \times F \end{aligned}$$

2. 按样本蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{海藻糖含量}(\text{mg/mg prot}) &= C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times C_{\text{pr}}) \times F \\ &= 0.05 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F \end{aligned}$$

3. 按细菌或细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{海藻糖含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (1000 \times C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}}) \div (N \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \times F \\ &= 50 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times F \end{aligned}$$

4. 按血清（浆）体积含量计算：

$$\begin{aligned} \text{海藻糖含量}(\text{mg/mL}) &= C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{液体}} \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \times F \\ &= 0.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times F \end{aligned}$$

C 标准：标准管浓度，0.05mg/mL；V 样本：反应体系中样本体积，0.06mL；V 提取：提取液总体积，1mL；V 液体：血清（浆）体积，0.1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞或细菌总数，以 10^4 计；1000:单位换算系数，1mg/mL=1000 μ g/mL。

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 >1.5 ，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] Sun X, Shen J, Perrimon N, Kong X, Wang D. The endoribonuclease Arlr is required to maintain lipid homeostasis by downregulating lipolytic genes during aging. *Nat Commun.* 2023 Oct 6;14(1):6254. doi: 10.1038/s41467-023-42042-7. PMID: 37803019; PMCID: PMC10558556.
- [2] Wang XP, Huang Z, Li YL, Jin KY, Dong DJ, Wang JX, Zhao XF. Krüppel-like factor 15 integrated autophagy and gluconeogenesis to maintain glucose homeostasis under 20-hydroxyecdysone regulation. *PLoS Genet.* 2022 Jun 13;18(6): e1010229. doi: 10.1371/journal.pgen.1010229. PMID: 35696369; PMCID: PMC9191741.
- [3] Wang S, Liu Y, Hao X, Wang Z, Chen Y, Qu Y, Yao H, Shen Y. AnWRKY29 from the desert xerophytic evergreen *Ammopiptanthus nanus* improves drought tolerance through osmoregulation in transgenic plants. *Plant Sci.* 2023 Nov; 336:111851. doi: 10.1016/j.plantsci.2023.111851. Epub 2023 Aug 28. PMID: 37648116.
- [4] Wang G, Li X, Ye N, Huang M, Feng L, Li H, Zhang J. OsTPP1 regulates seed germination through the crosstalk with abscisic acid in rice. *New Phytol.* 2021 Jun;230(5):1925-1939. doi: 10.1111/nph.17300. Epub 2021 Mar 27. PMID: 33629374.
- [5] Wang Y, Liu L, Pu X, Ma C, Qu H, Wei M, Zhang K, Wu Q, Li C. Transcriptome Analysis and SNP Identification Reveal That Heterologous Overexpression of Two Uncharacterized Genes Enhances the Tolerance of *Magnaporthe oryzae* to Manganese Toxicity. *Microbiol Spectr.* 2022 Jun 29;10(3): e0260521. doi: 10.1128/spectrum.02605-21. Epub 2022 May 31. PMID: 35638819; PMCID: PMC9241697.

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 3

