

## 血中海藻糖含量试剂盒(酶法-可见显色)（可见分光光度法）

产品货号：BA2849

产品规格：96样

### 产品简介：

本试剂盒提供一种海藻糖特异检测方法，即先用海藻糖酶特异性水解海藻糖分解成2分子葡萄糖，再用GOPOD方法检测葡萄糖含量，并且通过校正游离的葡萄糖背景值进而得到海藻糖含量，且其他二糖如麦芽糖和乳糖不会干扰本测定。

### 产品内容：

产品名称	规格	保存条件	备注
试剂A	粉剂mg×2支	-20℃	临用前甩几下使粉剂落入底部，每支再加0.6mL的蒸馏水溶解，静置十分钟左右取上清液测定。
试剂B	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下使粉体落入底部，再加0.65mL的蒸馏水溶解。
试剂C	液体5mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体μL×1支	-20℃	临用前甩几下使液体落入底部，再加1.1mL蒸馏水溶解，可分装后-20℃保存。
试剂二	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下使液体落入底部，再加2.2mL蒸馏水溶解，可分装后-20℃保存
试剂三	液体40mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体24mL×1瓶	2-8℃	
标准管	粉剂mg×1支	室温	准确称取2mg标准品（葡萄糖）至一新EP管中，再加2mL蒸馏水充分溶解即得1mg/mL标准品，再用蒸馏水稀释1倍至0.5mg/mL备用。（该标准品粉剂开封后也需干燥保存和使用）。
质控管	粉剂mg×1支	室温	该试剂为海藻糖，可用此试剂作为质控品来检验该试剂盒中的试剂和反应是否正常。

### 所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿（光径1cm）、天平、可调式移液器、研钵、离心机、蒸馏水。

### 海藻糖含量检测：

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

#### 1. 样本制备：

血样样本(建议先选取2个样本做预测定，依据结果判断是否采用除葡萄糖步骤)：

1-1：澄清的血样样本直接测定；

1-2：澄清的血样样本但含有高背景的葡萄糖含量即出现注意事项中第2项情况，可取100-200μL血样样本至新的EP管中，依次加入20μL的试剂A和10μL试剂B和70μL试剂C混匀(此时稀释倍数记为D1)，置于室温(25℃)孵育60min(间隔10-15min开盖一次(开盖后摇晃混匀几下并于开盖状态下静止约2min)，孵育结束后于95度煮沸10min，至室温后于12000rpm离心10min，取上清液作为样本待测定。

1-3：若血样样本浑浊且含有高背景的葡萄糖含量即出现注意事项中第2项情况，可取100μL血样样本至新的EP管中，加200μL无水乙醇，混匀静止5min，12000rpm离心后取全部上清液至一新的EP管中，依次加入20μL的试



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

剂A和10 $\mu$ L试剂B和70 $\mu$ L试剂C混匀(此时稀释倍数记为D2)，置于室温(25 $^{\circ}$ C)孵育60min(间隔10-15min开盖一次(开盖后摇晃混匀几下并于开盖状态下静止约2min)，孵育结束后于95度煮沸10min，至室温后于12000rpm离心10min，取上清液作为样本待测定。

## 2. 上机检测:

- ① 可见分光光度计设定波长到510nm，蒸馏水调零，所有试剂解冻至室温(25 $^{\circ}$ C)。
- ② 若上清液是经过处理的，可先做几个预测定，依据结果考虑是否增加样本上样量。
- ③ 在EP管中依次加入：

试剂名称( $\mu$ L)	测定管	对照管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	40	40		
标准品			40	
试剂一	20			
试剂二	20	20	20	20
试剂三	400	420	420	460
试剂四	240	240	240	240
混匀，室温（25 $^{\circ}$ C）避光反应30min，全部液体转移至1mL玻璃比色皿（光径1cm）中，于510nm下读取吸光值A， $\Delta A_{\text{样本}}=A_{\text{测定}}-A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}}=A_{\text{标准}}-A_{\text{空白}}$ 。				

【注】1.可用质控品来检验试剂和反应是否正常，即取2mg质控品即海藻糖至EP管中，加2mL蒸馏水溶解即1mg/mL，再用蒸馏水稀释一倍成0.5mg/mL海藻糖，取10 $\mu$ L的海藻糖做为样本按照测定管的加样顺序检测读值。

2.若样本加样量40 $\mu$ L时，测出来的A对照值大于1且 $\Delta A_{\text{样本}}$ 差值低于0.01，可能样本中还有较高背景葡萄糖含量，可先对样本进行除葡萄糖处理，再增加样本加样量V1：如80 $\mu$ L，则试剂三相应减少。则改变后的V1代入公式重新计算。

3.若样本加样量40 $\mu$ L时，若A对照值低于1，但 $\Delta A_{\text{样本}}$ 差值低于0.01，可增加样本加样量V1：如60 $\mu$ L，则试剂三相应减少。则改变后的V1代入公式重新计算。

4.若A对照值低于1.0，A测定值超过1.8，可以减少样本加样量V1：如20 $\mu$ L，则试剂三相应增加；或对样本进行稀释，则改变后的V1和稀释倍数D代入计算公式计算。

## 结果计算:

### 1. 按照血样样本计算:

$$1-1 \text{ 计算公式: 海藻糖含量(mg/mL)} = (C_{\text{标}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div 2 \times 342.3 \div 180.16 \div V_1 \times D \\ = 0.475 \times \Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times D$$

$$1-2 \text{ 计算公式: 海藻糖含量(mg/mL)} = (C_{\text{标}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div 2 \times 342.3 \div 180.16 \div V_1 \times D_1 \times D \\ = 0.475 \times \Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times D_1 \times D$$

$$1-3 \text{ 计算公式: 海藻糖含量(mg/mL)} = (C_{\text{标}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div 2 \times 342.3 \div 180.16 \div V_1 \times D_2 \times D \\ = 0.475 \times \Delta A_{\text{样本}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times D_2 \times D$$

海藻糖分子量--342.3；葡萄糖分子量---180.16；V---加入提取液体积，1mL；C标准---葡萄糖标准品的浓度，0.5mg/mL；V1---加入样本体积，0.01mL；2---1分子海藻糖分解成2分子葡萄糖；D---所有经过处理或未处理的血样加入96孔板测定时的稀释倍数，未稀释即为1；D1---若取100 $\mu$ L血样除葡萄糖则稀释倍数为200/100=2；若取200 $\mu$ L，则稀释倍数为1.5；D2---若取100 $\mu$ L血样由浑浊变澄清以及除糖则稀释倍数为400/100=4。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com