（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K757-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(530-550 nm)

Elabscience®还原糖比色法测试盒（DNS 法）

Revertose Colorimetric Assay Kit (DNS Method)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100
邮箱：biochemical@elabscience.cn
网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)和动、植物组织样本中还原糖含量。

检测原理

还原糖是指具有还原性的糖类。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，还原糖在碱性条件下与 3,5-二硝基水杨酸共热后被还原成氨基化合物，在碱性溶液中呈红棕色，还原糖的量与红棕色物质颜色的深浅成正比关系，以此测定样本中的还原糖含量。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，测定植物样本时推荐使用考马斯亮蓝法(货号：E-BC-K168-M)，测定动物样本时推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	显色剂 (Chromogenic Agent)	2 mL×1 瓶	4 mL×1 瓶	2-8°C避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	标准品 (Standard)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8°C 保存 6 个月
	酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(530-550 nm，最佳检测波长 540 nm)、水浴锅

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25°C)。

② 样本检测前，试剂一需75°C水浴加热10 min，流水冷却至25°C后待用。

③ 10 mg/mL标准品溶液的配制：

取一支试剂二用1 mL双蒸水溶解得到10 mg/mL的标准品溶液，未使用完的试剂可2-8°C保存一个月。

④ 1 mg/mL标准品溶液的配制：

将 10 mg/mL 标准品溶液和双蒸水按照体积比=1:9 稀释成 1 mg/mL 的标准品溶液。未使用完的试剂可 2-8°C 保存两周。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mg/mL)	**0**	**0.1**	**0.2**	**0.3**	**0.4**	**0.6**	**0.8**	**1.0**
1 mg/mL 标准品(μL)	0	20	40	60	80	120	160	200
双蒸水(μL)	200	180	160	140	120	80	40	0

样本准备

① 样本处理

血清(浆)等液体样本：直接检测。

组织样本：按照组织样本质量(g)：双蒸水体积(mL)为1:9的比例(如0.1 g组织样本，加入0.9 mL双蒸水)进行机械匀浆，4°C，10000 × g离心10 min，取上清置于冰盒中待测。可留取部分上清用于总蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.036-1.0 mg/mL，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小麦组织	15-30	10%稻谷组织	15-30
10%玉米组织	15-30	10%南瓜组织	10-20
10%小鼠肝组织	3-10	人血清	不稀释

注：稀释液为双蒸水。

操作步骤

① 标准管：取 30 μL 不同浓度的标准品溶液加入相应的 0.5 mL EP 管中。
测定管：取 30 μL 待测样本加入相应的 0.5 mL EP 管中。

② 向步骤①中的每管加入 30 μL 试剂一。

③ 混匀，95°C 水浴 10 min，流水冷却。

④ 向步骤③中每管加入 180 μL 双蒸水。

⑤ 混匀，取 200 μL 加入酶标板孔，540 nm 测定各孔 OD 值。

操作表

	标准管	**测定管**
不同浓度标准品(μL)	30	--
待测样本(μL)	--	30
试剂一(μL)	30	30
混匀，95°C 水浴 10 min，流水冷却		
双蒸水(μL)	180	180
混匀，取 200 μL 加入酶标板孔，540 nm 测定各孔 OD 值		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，测定植物样本时推荐使用考马斯亮蓝法(货号：E-BC-K168-M)，测定动物样本时推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

标准品拟合曲线：y = ax + b.

① 血清(浆)等液体样本中还原糖含量计算公式：

$$\text{还原糖含量 (mmol/L)} = \frac{\Delta A - b}{a} \times f \div 180^{*} \times 1000^{**}$$

② 组织样本中还原糖含量计算公式：

$$\text{还原糖含量 (mmol/kg wet weight)} = \frac{\Delta A - b}{a} \times V \div m \times f \div 180^{*} \times 1000^{**}$$

或者

$$\text{还原糖含量 (mmol/gprot)} = \frac{\Delta A - b}{a} \div C_{pr} \times f \div 180^{*} \times 1000^{**}$$

注解：

y：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA：测定孔 OD 值-空白孔 OD 值

*：葡萄糖分子量，180 mg/mmol

**：单位换算，1mL=10^-3L；1g =10^-3kg；1mgprot=10^-3gprot

V：组织样本处理过程中加入双蒸水体积，0.9 mL

m：样本质量，0.1 g

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr}：样本加入检测体系前的蛋白浓度，mgprot/mL

附录1 关键数据

1. 技术参数

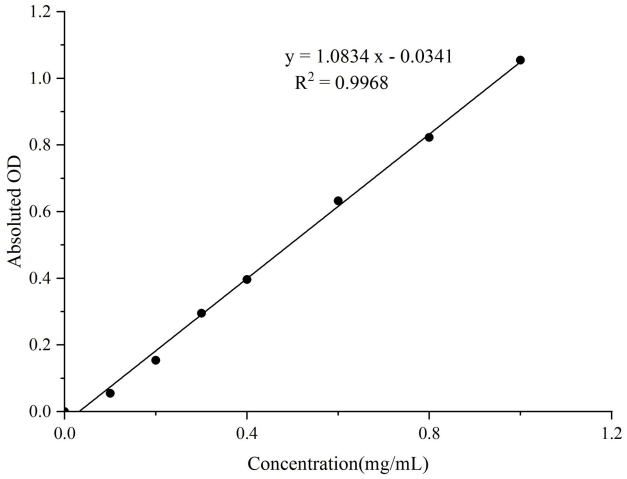
检测范围	0.036-1.0 mg/mL	批间差	2.1-5.3%
灵敏度	0.036 mg/mL	批内差	1.0-2.9%
加标回收率	103-106%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量30 μL，按照操作步骤进行实验，OD值如下表所示：

标准品浓度(mg/mL)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8	1.0
OD 值	0.055	0.109	0.215	0.352	0.458	0.675	0.882	1.104
	0.055	0.111	0.203	0.349	0.444	0.700	0.874	1.115
平均 OD 值	0.055	0.110	0.209	0.351	0.451	0.688	0.878	1.110
绝对 OD 值	0.000	0.055	0.154	0.296	0.396	0.633	0.823	1.055

② 绘制标曲(如下图)：



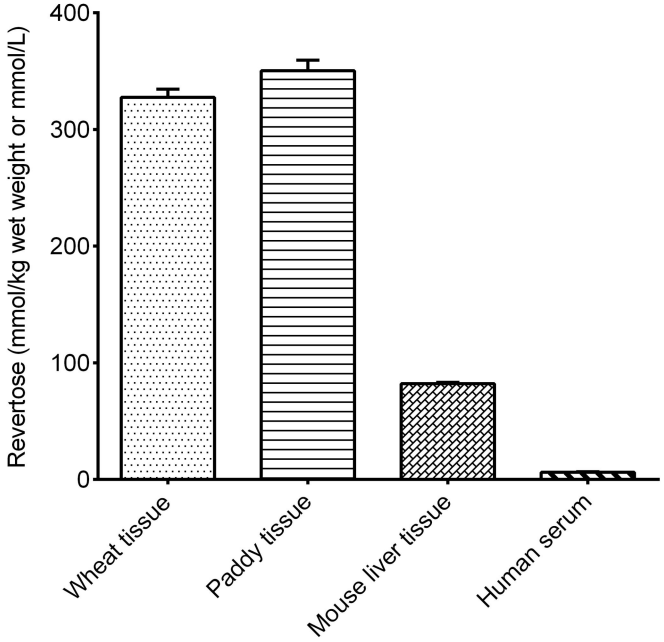
附录2 实例分析

例如检测小麦组织(数据仅供参考)：

取 30 μL 稀释 25 倍后的小麦组织上清液，按操作表操作，结果如下：标准曲线 y = 1.0834 x - 0.0341，测定孔 OD 值为 0.309，空白孔 OD 值为 0.055，计算结果为：

还原糖含量(mmol/kg wet weight) = (0.309 - 0.055 + 0.0341) ÷ 1.0834 × 0.9 ÷ 0.1 × 25 ÷ 180 × 1000 = 332.38 mmol/kg wet weight

按照说明书操作，测定小麦组织(稀释 25 倍，加样量 30 μL)、稻谷组织(稀释 25 倍，加样量 30 μL)、小鼠肝组织(稀释 5 倍，加样量 30 μL)、人血清(加样量 30 μL)中还原糖的含量(如下图)：



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。