

（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-K754-M

产品规格：48T(22 samples)/96T(46 samples)

检测仪器：酶标仪(500-520 nm)

Elabscience®海藻糖比色法测试盒（酶法）

Trehalose Colorimetric Assay Kit (Enzyme 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真菌、藻类、植物等样本中的海藻糖含量。

检测原理

海藻糖(Trehalose)是由两个葡萄糖分子组成的一个非还原性双糖，广泛存在于低等植物、无脊椎动物和微生物中。海藻糖是许多昆虫和真菌的主要储能物质。除此之外，海藻糖对生物体和生物大分子具有非特异性保护作用，这一特殊性质使得它被广泛应用于化妆品、食品工业、医药和农业等诸多领域。

本试剂盒通过海藻糖酶特异性水解海藻糖分解成两分子葡萄糖，再用 GOD-POD 法检测葡萄糖含量，设置对照孔消除葡萄糖背景值的影响，以此来测定样本中的海藻糖含量，具有特异性强、灵敏度高等特点。

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)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	0.3 mL×1 支	0.6 mL×1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	4.5 mL×1 瓶	9 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	海藻糖标准品 (Trehalose Standard)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8℃避光 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(500-520 nm，最佳检测波长 510 nm)，恒温箱，水浴锅

试剂准备

① 检测前，试剂一置于冰盒上待用，其余试剂平衡至室温(25℃)。

② 10 mg/mL标准品溶液的配制：

取一支试剂四用1 mL双蒸水溶解得到10 mg/mL标准品溶液，未使用完的标准品溶液可2-8℃保存一个月。

③ 1 mg/mL标准品溶液的配制：

按10 mg/mL标准品溶液：双蒸水体积比=1：9稀释，按需配制，8 h内使用有效。

样本准备

① 样本处理

组织样本：称取0.1 g组织样本于2 mL EP管中，90℃水浴加热10 min。加入0.9 mL双蒸水，进行机械匀浆。室温(25℃)，10000 × g离心10 min，取上清液待测。

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：0.007-1.00 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%红平菇菌盖组织	8-16	10%平菇菌盖组织	5-10
10%香菇菌盖组织	2-4		

注：稀释液为双蒸水。

操作步骤

- ① 测定孔：取 10 μL 待测样本，加入测定孔中；
对照孔：取 10 μL 待测样本，加入对照孔中；
标准孔：取 10 μL 1 mg/mL 标准品溶液，加入标准孔中。
- ② 向步骤①中测定孔、标准孔中加入 10 μL 试剂一。
- ③ 向步骤②中测定孔、标准孔加入 100 μL 试剂二；
向步骤②中对照孔加入 110 μL 试剂二；
向步骤②中空白孔加入 120 μL 试剂二。
- ④ 向步骤③中各孔加入 80 μL 试剂三。
- ⑤ 振板 5 s，37°C 避光孵育 30 min，酶标仪 510 nm 测定各孔 OD 值，记为 A。

操作表

	测定孔	对照孔	标准孔	空白孔
待测样本(μL)	10	10	--	--
1 mg/mL 标准品溶液(μL)	--	--	10	--
试剂一(μL)	10	--	10	--
试剂二(μL)	100	110	100	120
试剂三(μL)	80	80	80	80
振板 5 s，37°C 避光孵育 30 min，酶标仪 510 nm 测定各孔 OD 值，记为 A。				

结果计算

组织样本中海藻糖含量计算公式：

$$\text{海藻糖含量} \quad (\text{mg/g wet weight}) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times c \times f \div \frac{m}{V}$$

注解：

c：标准品浓度，1 mg/mL

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

m：待测样本的质量，g

V：加入双蒸水的体积，mL

附录1 关键数据

1. 技术参数

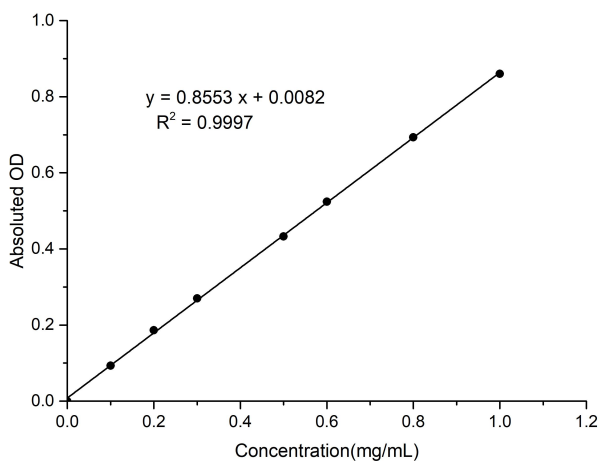
检测范围	0.007-1.00 mg/mL	批间差	1.9-6.6%
灵敏度	0.007 mg/mL	批内差	1.3-2.6%
加标回收率	97-100%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品上样量10 μ L, 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	0.5	0.6	0.8	1.0
OD 值	0.054	0.146	0.235	0.321	0.485	0.579	0.742	0.912
	0.055	0.151	0.247	0.329	0.491	0.579	0.753	0.918
平均 OD 值	0.055	0.148	0.241	0.325	0.488	0.579	0.748	0.915
绝对 OD 值	0.000	0.093	0.186	0.270	0.433	0.524	0.693	0.860

② 绘制标曲(如下图):



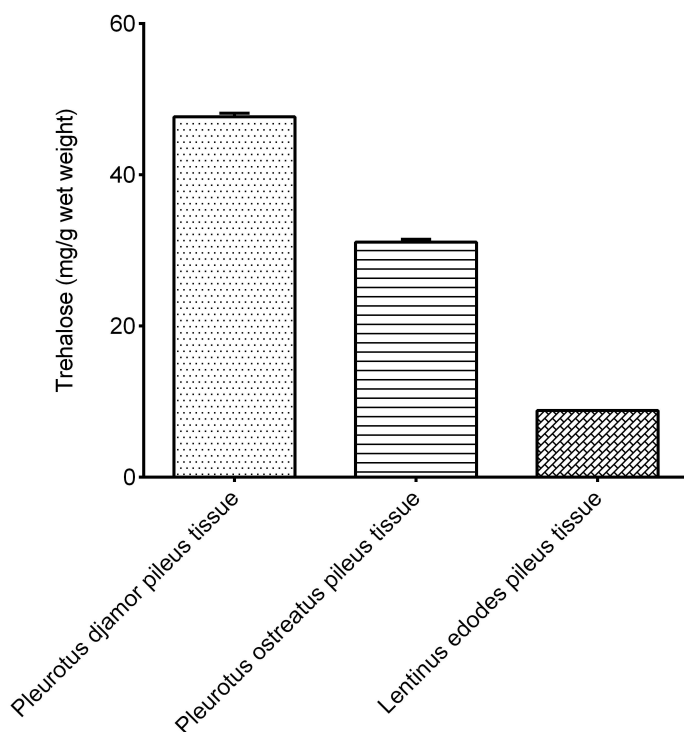
附录2 实例分析

例如检测平菇菌盖组织(数据仅供参考):

取 10 μL 稀释 6 倍的 10%平菇菌盖组织样本, 按操作表操作, 结果如下:
测定孔 OD 值为 0.546, 对照孔 OD 值为 0.054, 标准孔 OD 值为 0.908, 空白孔 OD 值为 0.053。计算结果为:

$$\begin{aligned}\text{海藻糖含量}(\text{mg/g wet weight}) &= (0.546 - 0.054) \div (0.908 - 0.053) \times 1 \times 6 \div 0.1 \times 0.9 \\ &= 31.07 \text{ mg/g wet weight}\end{aligned}$$

按照说明书操作, 测定红平菇菌盖组织(10%匀浆稀释 8 倍, 加样量 10 μL)、平菇菌盖组织(10%匀浆稀释 6 倍, 加样量 10 μL)、香菇菌盖组织(10%匀浆稀释 2 倍, 加样量 10 μL)中的海藻糖含量(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。