

D-Mannose Content Kit

甘露糖含量检测试剂盒说明书

货号:BN72221 | 方法: 紫外分光法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

本试剂盒提供一种定量、快速、简单、灵敏的检测甘露糖含量的方法,甘露糖经特异性酶作用后转化为葡萄糖,葡萄糖在己糖激酶等酶复合物作用下,使NADPH的量不断增加,通过检测340nm下该物质的增加量,进而计算得到甘露糖含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂×1支	-20℃保存	临用前甩几下或离心,使粉剂落入底部,再加1.1mL蒸馏水备用。
试剂二	液体1mL×1支	4℃保存	
试剂三	液体30mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	粉剂×1支	-20℃保存	临用前甩几下或离心,使粉剂落入底部,再加1.1mL蒸馏水备用,可分装后-20℃保存。
试剂五	液体μL×1支	-20℃保存	临用前甩几下或离心,使微量液体落入底部,再加1.1mL蒸馏水备用,可分装后-20℃保存。
试剂六	液体μL×1支	-20℃保存	临用前甩几下或离心,使微量液体落入底部,再加1.1mL蒸馏水备用,可分装后-20℃保存。
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	仅用来鉴定试剂盒中试剂是否正常(不参与结果计算)。 使用方法:用前标准管(甘露糖)甩几下使粉剂落入底部,再加 0.5mL 蒸馏水混匀溶解即浓度为 40μmol/mL,再稀释 40 倍成 1μmol/mL 后备用;按照加样表中测定管操作(样本更换成备用浓度标准品)。

三、所需仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 的石英比色皿(光径 1cm)、天平、可调式移液器、研钵、水浴锅、离心机、蒸馏水。

四、甘露糖含量检测:

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:

① 组织样本:

取 0.1g 组织样本(水分充足样本建议取 0.2g 左右)至 EP 管中,加 1mL 的蒸馏水或生理盐水研磨,粗提液全部转移到 EP 管中,12000rpm,常温离心 10min,上清液待测。

【注】:做实验前可以选取几个样本,找出适合本次检测样本的稀释倍数 D,果实样本含糖量较高,可稀释 20-40 倍;叶片样本可稀释 2-5 倍。

② 液体样品:

近似中性的澄清液体样本可直接检测;若为酸性样本则需先用 NaOH(2M)调 PH 值约 7.4,然后室温静置 30min,取澄清液体直接检测。

【注】可选取几个样本,进行不同倍数的稀释,选取适合本次样本的稀释倍数 D。

③ 细菌/细胞样本:

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 蒸馏水或生理盐水，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 室温离心 10min，取上清，上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4): 提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

2、上机检测：

- ① 紫外分光光度计预热 30min，设置温度在 25℃，设定波长到 340nm，蒸馏水调零。
- ② 所有试剂解冻至室温（25℃），或于 25℃水浴锅中孵育 15min。
- ③ 在 1mL 的石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（ μL ）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	60	
蒸馏水		60
试剂一	20	20
试剂二	20	20
试剂三	560	560
试剂四	20	20
试剂五	20	20
混匀，室温（25℃）反应20min于340nm处读取各管的A1值（若A值继续增加，可延长反应时间，直至2分钟内的吸光值保持不变即2分钟内吸光值变化不超过0.05）。		
试剂六	20	20
混匀，室温（25℃）反应30min于340nm处读取各管的A2值（若A值继续增加，需延长反应时间，直至2分钟内的吸光值保持不变即2分钟内吸光值变化不超过0.05）， $\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{测定}} - (A_2 - A_1)_{\text{空白}}$ 。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照质量计算：

甘露糖含量(mg/g 鲜重)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3$] $\div$ (W $\times V_1 \div V) \times D = 0.343 \times \Delta A \div W \times D$

2、按照体积计算：

甘露糖含量(mg/mL)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^3$] $\div V_1 \times D = 0.343 \times \Delta A \times D$

3、按细胞数量计算：

甘露糖含量($\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}$)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times Mr \times 10^6$] $\div (500 \times V_1 \div V) \times D = 343 \times \Delta A \div 500 \times D$

ϵ ---NADPH 的摩尔消光系数， $6.3 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；

d---光径，1cm；

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.06mL；

V2---反应总体积， $7.2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ；

Mr---甘露糖分子量，180.16；

500---细胞数量，万；

W---样本鲜重，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。