Blood Trehalose Content Kit

血中海藻糖含量（酶法）检测试剂盒说明书

货号：BN72634 | 方法：可见分光法 | 规格：48 样

一、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。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂 A	粉体 mg×2 支	-20℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，每支再加 0.6mL 的蒸馏水溶解。静止十分钟左右取上清液测定。
试剂 B	粉体 mg×1 支	-20℃保存	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	4℃保存	
试剂一	液体μL×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使液体落入底部，再加 1.1mL 的蒸馏水溶解。可分装后-20℃保存。
试剂二	粉体 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 2.2mL 的蒸馏水溶解。
试剂三	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 24mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	粉体 mg×1 支	室温干燥保存	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。（**该标准品粉体开封后也需干燥保存和使用**）
质控管	**粉体 mg×1 支**	室温干燥保存	**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。**

三、所需仪器和用品：

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。

四、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 的试剂 A 和 10μL 试剂 B 和 70μL 试剂 C 混匀（此时稀释倍数记为 D2），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。

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℃）。

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（μL）	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℃）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，△A 样本=A 测定-A 对照，△A 标准=A 标准-A 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、按照血样样本计算：

1-1计算公式:海藻糖含量(mg/mL)=(C标×V1)×△A样本÷△A标准÷2×342.3÷180.16÷V1×D

=0.475×△A样本÷△A标准×D

1-2计算公式:海藻糖含量(mg/mL)=(C标×V1)×△A样本÷△A标准÷2×342.3÷180.16÷V1×D2×D

=0.475×△A样本÷△A标准×D2×D

1-3计算公式:海藻糖含量(mg/mL)=(C标×V1)×△A样本÷△A标准÷2×342.3÷180.16÷V1×D3×D

=0.475×△A样本÷△A标准×D3×D

海藻糖分子量---342.3；　　葡萄糖分子量---180.16；

C 标准---葡萄糖标准品的浓度，0.5mg/mL；　　V---加入提取液体积，1mL；

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比色皿测定时的稀释倍数，未稀释即为 1；

D1---若取 100μL 血样除葡萄糖则稀释倍数为 200/100=2；若取 200μL 则稀释倍数为 1.5；

D2---若取 100μL 血样由浑浊变澄清以及除糖则稀释倍数为 400/100=4。