Blood Trehalose Content Kit

血中海藻糖含量（酶法）检测试剂盒说明书

货号：BN72635 | 方法：微板法 | 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 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 0.6mL 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 1.1mL 的蒸馏水溶解。
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 8mL×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：

酶标仪、96 孔板、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 酶标仪预热 30min，设定波长到 510nm，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 为了减少操作误差，建议使用排枪依次在 96 孔板中依次加入：

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	10	10		
标准品			10	
试剂一	10			
试剂二	10	10	10	10
试剂三	90	100	100	110
试剂四	80	80	80	80
混匀，室温（25℃）避光反应 30min，510nm 下读取吸光值 A，△A 海藻糖=A 测定-A 对照，				

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×D1×D

=0.475×△A样本÷△A标准×D1×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×D2×D

=0.475×△A样本÷△A标准×D2×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 96 孔板测定时的稀释倍数，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。