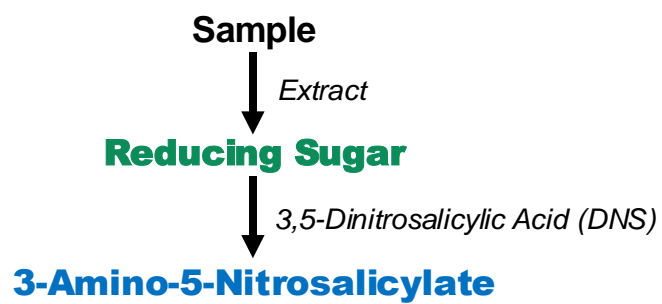




还原糖含量检测试剂盒

Reducing Sugar Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



还原糖含量检测试剂盒

Reducing Sugar Content Assay Kit

一、产品描述

还原糖是指分子结构中含有还原性游离醛基或酮基的单糖和含有游离醛基的二糖, 主要包括葡萄糖、果糖、半乳糖、乳糖、麦芽糖等, 广泛存在于动物、植物和微生物中, 不仅是构成机体的重要组分, 也是新陈代谢的主要原料和贮存物质。

还原糖在碱性溶液中能够与 3,5-二硝基水杨酸反应生成棕红色氨基化合物, 产物在 540 nm 处具有特征吸收峰, 还原糖在一定的浓度范围内与 540 nm 处吸光值呈线性关系, 根据吸光值变化即可定量检测还原糖的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
显色液	液体 15 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 葡萄糖标准品)	4°C保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 葡萄糖标准液)
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用蒸馏水稀释至 0.4、0.3、0.2、0.15、0.1、0.05 mg/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
标准液体积 (μL)	100	200	150	100	150	100	50
蒸馏水体积 (μL)	900	300	350	400	850	900	950
稀释后浓度 (mg/mL)	1.0	0.4	0.3	0.2	0.15	0.1	0.05

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴和蒸馏水。

1.还原糖的提取（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，80°C水浴 40 min（期间振荡混匀 3-5 次，密封以防止水分散失），10000 g 常温离心 10 min，吸取 100 μL 上清液，加入 900 μL 蒸馏水，充分混匀即为待测样本。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL)为（500-1000）:1 的比例（建议 500 万细菌或细胞，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎细菌或细胞（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），80°C水浴 40 min（期间振荡混匀 3-5 次，密封以防止水分散失），10000 g 常温离心 10 min，吸取 100 μL 上清液，加入 900 μL 蒸馏水，充分混匀即为待测样本。

③血清（浆）、培养液等液体样本：按照液体样本体积（mL）：提取液体积（mL）为 1:（5-10）的比例（建议吸取 0.1 mL 液体样本，加入 1 mL 提取液）处理样品，80°C水浴 40 min（期间振荡混匀 3-5 次，密封以防止水分散失），10000 g 常温离心 10 min，吸取 100 μL 上清液，加入 900 μL 蒸馏水，充分混匀即为待测样本。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 540 nm。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	140	140	-	-
标准稀释液	-	-	140	-
蒸馏水	-	100	-	140
显色液	100	-	100	100

充分混匀，95°C处理 5 min（密封以防止水分散失）
立即冷却至室温并充分混匀

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板中，测定 540 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样品均需设定一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的绘制：以 0.4、0.3、0.2、0.15、0.1、0.05 mg/mL 标准稀释液浓度为横坐标 (x)，对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标 (y)，得到线性回归方程 $y = kx + b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中计算 x (mg/mL)。

3.还原糖含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{还原糖含量 (mg/g)} = \frac{x \times V_{\text{提}} \times V_{\text{样总}}}{W \times V_{\text{上清}}} = \frac{10 \times x}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

$$\text{还原糖含量 (mg/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{上清}}} = \frac{10 \times x}{C_{\text{pr}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{还原糖含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{提}} \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{上清}}} = \frac{10 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{还原糖含量 (mg/mL)} = \frac{x \times (V_{\text{液}} + V_{\text{提}}) \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{液}} \times V_{\text{上清}}} = 110 \times x$$

注释： V 样总：待测样本总体积，1 mL；V 上清：提取过程中吸取上清液的体积，0.1 mL；V 提：提取过程中加入提取液的体积，1 mL；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；Cpr：待测样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

- ①若 A 测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；低于最低值建议制备更高浓度样本后再进行测定，计算时相应修改；
- ②95℃处理 5 min 显色后溶液若出现浑浊，建议 10000 g 常温离心 10 min，取上清检测吸光值；
- ③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

