上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

还原糖(RS)含量检测试剂盒(微量法)

货号： R41815

规格： 100T/48S

有效期：6个月

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
R41815-A	100ml×1瓶	2-8℃保存
R41815-B	20ml×1瓶	2-8℃保存
R41815-标准品	粉剂×1支	2-8℃保存

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义：还原糖 (Reducing Sugar, RS) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。植物体内的还原糖主要包括葡萄糖、果糖和麦芽糖等，是最常见的单糖和双糖，其中葡萄糖和果糖不仅是呼吸作用的主要底物，也是进一步合成蔗糖、淀粉和纤维素的底物。

原理：加热促进碱性溶液中 3,5-二硝基水杨酸溶液与还原糖生成棕红色氨基化合物，在 540nm 有特征吸收峰；在一定的浓度范围内，还原糖含量与 540nm 吸光度成线性关系，根据标准曲线，即可求出样品中还原糖的量。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、水浴锅、可调式移液枪、研钵、冰和双蒸水。

样品中还原糖的提取：

1. 细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10^4 个）：R41815-A（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 1000 万细菌

或细胞加入 2mL R41815-A，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），转移到有盖离心管中（防止加热时水分散失），80℃水浴中 40min 并且振荡 8~10 次，8000g，常温离心 10min，取上清供测定用。

2. 组织：按照组织质量（g）：R41815-A 体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.2g 组织，加入2mL R41815-A），冰浴匀浆，转移到有盖离心管中（防止加热时水分散失），80℃ 水浴中 40min 并且振荡 8~10 次，8000g，常温离心 10min，取上清供测定用。

3. 血清（浆）样品：按照血清（浆）体积（mL）：R41815-A 体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议取 0.2mL血清（浆）加入 1.8mL R41815-A），冰浴匀浆，转移到有盖离心管中（防止加热时水分散失），80℃水浴中 40min 并且振荡 8~10 次，8000g，25℃离心 10min，取上清供测定用。

测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。

2. 标准品准备：临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解成 10mg/ml 的标准品原液备用（4℃可保存 1 周），再将标准品用蒸馏水稀释至 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0mg/mL。

3. 在 EP 管中加入下列试剂：

试剂名称	对照管(ul)	测定管(ul)	标准管(ul)	空白管(ul)
样本	175	175		
标准液			175	
R41815-B		125	125	125
蒸馏水	125			175
将各管摇匀，在沸水浴中加热5min(盖紧，防止水分散失),取出后立即冷却至室温混匀；在540nm波长下读取各管吸光值。计算△A=A测定-A对照。				

还原糖含量计算：

1. 绘制标准条件：

根据标准管浓度和吸光度（A 标准管-A 空白管）建立标准曲线，x 为吸光度，y 为标准品浓度（mg/mL）。根据标准曲线计算样本中还原糖的含量，即将 ΔA（A 测定管-A 对照管）带入 x 计算出 y 值。

2. 计算公式：

（1）按样本鲜重计算：

还原糖 (μg/g 鲜重) =1000×y×V1÷W=2000×y÷W

（2）按样本蛋白浓度计算：

还原糖 (μg/mg prot) =1000×y×V1÷（V1×Cpr）= 1000× y÷Cpr

（3）按细菌或细胞密度计算：

还原糖 (μg/10^4cell) =1000×y×V1÷1000=2×y

（4）按血清（浆）体积计算：

还原糖 (μg/mL) =1000×y×V2÷V3=10000×y

注：1000：1mg/mL=1000μg/mL；V1：加入 R41815-A 体积，2mL；V2：加入血清（浆）和 R41815-A 总体积，2mL；V3： 加入血清（浆）体积，0.2mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；1000：细菌或细胞数量，1000 万。

注意事项

1. 每个测定管需设一个对照管。

2. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。