天净沙系列

CAT#: 7-C 9004-54-0-540

低温运输，-20℃保存

天净沙

β-葡聚糖含量测定试剂盒

β-Glucan Assay Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是用于检测β-葡聚糖（β-glucan）含量的试剂盒。其原理是 3，5-二硝基水杨酸在碱性条件下与还原糖共热之后生成棕红色氨基化合物。该产物在 540 nm 下有特征光吸收，通过测定反应过程中产物吸光度的变化，来间接测定β-葡聚糖的含量。本产品有如下特点：

1. 操作简单快捷。
2. 即开即用，用户不用单独准备各种试剂。
3. 提供β-葡聚糖阳性对照溶液，便于在遇到问题时分析原因。
4. 适用于检测人工合成的、或从各种材料中提取的β-葡聚糖样本。
5. 本试剂盒灵敏度高，会受其他还原糖影响。
6. 检测的线性范围是 XX mM 至 XXX μM，检测下限是 X μM。
7. 本产品足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 400 次 250 μL 体系的 96 孔板检测。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
β-葡聚糖含量测定反应液	7-C 9004-54-0-540r	120 mL	120 mL 棕色瓶
β-葡聚糖干粉	CAS: 9004-54-0	100 T	1.5 mL 本色管
β-葡聚糖底物干粉	7-C 9004-54-0-540s	100 T	75 mL 本色瓶
使用手册	7-C 9004-54-0-540sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存。有效期一年。

自备物品

超纯水、分光光度计、2 M 硫酸溶液、氢氧化钠溶液

使用方法

一、首次使用本试剂盒时试剂的配制

1. 配置 1 mM β-葡聚糖阳性对照溶液：在装有β-葡聚糖干粉的瓶中加入 10 mL 自备超纯水，颠倒摇晃 20 次溶解得到 1 mM β-葡聚糖阳性对照溶液。没用完的此溶液需要-20℃保存。
2. 配制β-葡聚糖底物溶液：将 50 mL β-葡聚糖含量测定反应液加入到装有β-葡聚糖底物干粉的瓶中，颠倒摇晃 20 次溶解，得β-葡聚糖底物溶液
3. 用自选方式制备待测样本。

二、标准曲线梯度稀释液的制备

4. 每次测量都应制作标准曲线，下面以 6 个稀释度的标准曲线为例。
5. 标记 1-6 个 1.5 mL 离心管，每个管中加入 0.7 mL 超纯水。

6. 将第 1 步制备的 1 mM β-葡聚糖阳性对照溶液为 1 号管样品。
7. 2 号管中加入 0.7 mL 在第 1 步制备的 1 mM β-葡聚糖阳性对照溶液，充分震荡 1 分钟，得 0.5 mM β-葡聚糖溶液。放冰上待用。
8. 换枪头，在 3 号管中加入 0.7 mL 0.5 mM β-葡聚糖溶液(上步稀释所得)，充分震荡 1 分钟，得 250 μM β-葡聚糖溶液。放冰上待用。
9. 重复上面的操作直到得到 1 mM、0.5 mM、250 μM、125 μM、62.5 μM、31.25 μM 共 6 个稀释度的样品。放冰上待用。

三、水解

10. 取样品及标准品，加入自备的 2 M 硫酸溶液，沸水浴水解 30 分钟，冷却后中和至 pH 7.0（氢氧化钠溶液）。

四、用光径 1 cm 的比色皿测定光吸收

11. 假设有 N 个样本，每个样本做一次重复，则标记 N+7 个 1.5 mL 离心管，其中 N 个用于待测样本，多出的 6 个用于标准曲线制备，另外一个用做阴性对照。
12. 按下表在各管中加入各成分。根据分光光度计一次可以同时测定的样本数决定每次加几个样本：

成分	N 个样本管	阴性对照	6 个标曲管
β-葡聚糖底物溶液	各 900 μL	900 μL	900 μL
N 个待测样本	各 100 μL	不加	不加
第 8 步所得 6 个样	不加	不加	各 100 μL 分别到对应的管

13. 将样本混合后静置 10 分钟。然后使用分光光度计测定每个样本在 540 nm 的光吸收读数，测前用超纯水调零，共得 N+7 个读数。

五、数据处理

14. 计算真实 OD540 光吸收：每个样本测得的光吸收减去阴性对照的光吸收即为每个样本的光吸收。共 N+6 个读数。
15. 制备标准曲线：以β-葡聚糖溶液的浓度为横轴，以其真实 OD540 光吸收为纵轴，绘制标准曲线。
16. 将 N 个待测样品的 OD540 值带入标准曲线方程，即可计算出每个待测样品中的β-葡聚糖的浓度。

六、多孔板酶标仪检测

17. 同上，只是所有反应体系按比例缩小使得终体积跟酶标用多孔板板兼容，

	最后在 540 nm 测定光吸收。
关联产品	ADP-葡萄糖含量测定试剂盒