

糖原含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

货号：BC0345

规格：100T/96S

产品内容：

提取液：液体100mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：0.1mg/mL的葡萄糖标准液10mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1瓶，4℃保存。

产品说明：

糖原是由葡萄糖单位构成的高分子多糖，是糖的主要的储存形式之一，主要贮存在肝和肌肉中作为备用能量，分别称为肝糖原和肌糖原。肝糖原可调节血糖浓度，当血糖升高时可在肝脏合成糖原，血糖降低时，肝糖原则分解为葡萄糖以补充血糖。因此，肝糖原对维持血糖的相对平衡十分重要。肌糖原是肌肉中糖的储存形式，在剧烈运动消耗大量血糖时，肌糖原不能直接分解成血糖，必须先分解产生乳酸，随血液循环到肝脏，通过糖异生转变为肝糖原或葡萄糖。

测定原理：蒽酮法。利用强碱性提取液提取糖原，在强酸性条件下利用蒽酮显色剂测定糖原含量。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量比色皿/96孔板、浓硫酸（不允许快递）和蒸馏水。

操作步骤：

一、糖原提取：

1、细胞或细菌：收集500~1000万细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；加入0.75mL提取液超声波破碎细菌或细胞（功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；转移至10mL试管中，置于95℃水浴20min（盖紧，防止水分散失），隔5min振摇试管1次，使充分混匀；取出试管冷却后，用蒸馏水定容到5mL，混匀，8000g 25℃离心10min，取上清液待测。

2、组织：称取0.1~0.2g样品，置于10mL试管中；加入0.75mL提取液，置于95℃水浴20min（盖紧，防止水分散失），隔5min振摇试管1次，使充分混匀；待组织全部溶解后，取出试管冷却后，用蒸馏水定容到5mL，混匀，8000g 25℃离心10min，取上清液待测。

二、步骤和加样表

- 1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至620nm，蒸馏水调零。调节水浴锅至95℃。
- 2、在试剂二中倒入6mL蒸馏水，缓慢倒入24mL浓硫酸，充分溶解混匀后使用。4℃有效期一周。
- 3、加样表（在EP管中反应）：

试剂	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)
待测样本			60
试剂一		60	
蒸馏水	60		
试剂二	240	240	240

混匀，置95℃水浴10min（盖紧，防止水分散失），冷却，取200μL 转移至微量比色皿或96 孔板中，于620nm 波长处，分别读取空白管、标准管和测定管吸光度，分别记为A1、A2 和A3。

注意：1、空白管和标准管只要测一次。

2、如果A3-A1 大于2，需要将样本用蒸馏水稀释，计算公式中乘以相应的稀释倍数。

三、糖原含量的计算：

1、按照样本鲜重计算

$$\text{糖原 (mg/g 鲜重)} = 1.11 \times (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (W \times V_1 \div V_2) = 0.555 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div W$$

2、按照蛋白质含量计算

$$\text{糖原 (mg/mg prot)} = 1.11 \times (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (V_1 \times C_{\text{pr}}) = 0.111 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div C_{\text{pr}}$$

3、按照细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{糖原 (mg/10}^4\text{cell)} &= 1.11 \times (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (\text{细菌或细胞数量} \times V_1 \div V_2) \\ &= 0.555 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div \text{细菌或细胞数量} \end{aligned}$$

1.11：是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数，即111μg 糖原用蒽酮试剂显色相当于100μg 葡萄糖用蒽酮所试剂显示的颜色；C 标准：标准管浓度，0.1mg/mL；V1：加入反应体系中待测样本体积，0.06mL；V2：提取液体积，5mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g；细菌或细胞数量：以10⁴为单位，万个。

注意：最低检测限为10ng/g 鲜重或0.1ng/mg prot。