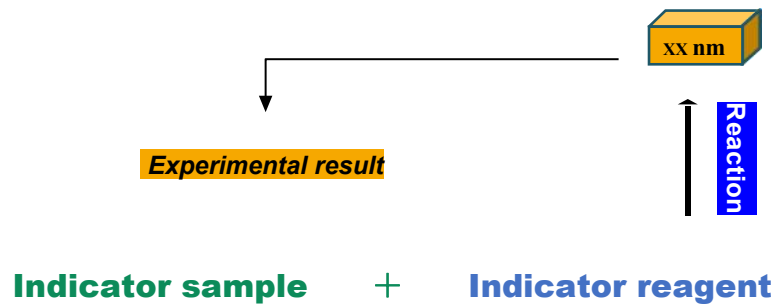


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

糖原含量检测试剂盒说明书 可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

试剂的组成和配制：

| 种类 | 试剂规格 | 储存条件 | 使用方法及注意事项 |
|-----|------------|------|-------------------------|
| 提取液 | 液体50mL×1 瓶 | 4℃保存 | |
| 试剂一 | 粉剂10mg×1支 | 4℃保存 | 临用前配置成0.1mg/mL的葡萄糖标准水溶液 |
| 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、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、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，置于沸水浴中煮沸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，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，置于沸水浴中煮沸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，待测。

二、步骤和加样表

1、分光光度计预热30min 以上，调节波长至620nm，蒸馏水调零。

2、试剂二工作液的配置：在试剂二中倒入10mL 蒸馏水，缓慢倒入40mL 浓硫酸，充分溶解混匀后使用。用不完的的试剂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 | | | 250 |
| 试剂一 | | 250 | |
| 蒸馏水 | 250 | | |
| 试剂二 | 1000 | 1000 | 1000 |

混匀，沸水浴10min（盖紧，防止水分散失），冷却，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1.5，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、按照样本质量计算

$$\text{糖原 (mg/g 鲜重)} = (C_{\text{标准}} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (W \times V1 \div V2) \div 1.11 = 0.450 \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div W$$

2、按照蛋白质含量计算

$$\text{糖原 (mg/mg prot)} = (C_{\text{标准}} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (V1 \times Cpr) \div 1.11 = 0.450 \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div Cpr$$

3、按照细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{糖原 (mg/10}^4 \text{ cell)} &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (\text{细菌或细胞数量} \times V1 \div V2) \div 1.11 \\ &= 0.450 \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div \text{细菌或细胞数量} \end{aligned}$$

1.11：是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数，即111μg葡萄糖用蒽酮试剂显色相当于100μg糖原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，0.25mL；V2：样本总体积，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。