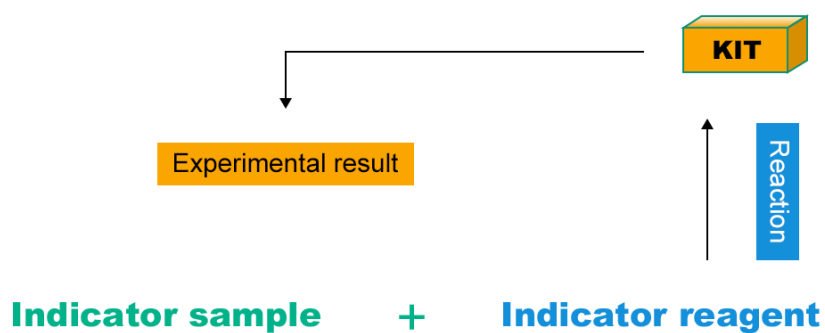


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0420

Size: 100T/96S

糖原含量检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

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。

二、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。

三、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。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×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	

五、操作步骤:

● 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°C 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°C 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°C 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°C 离心 10min,取上清液待测。

● 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°C。

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°C 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°C 水浴 10min(盖紧,防止水分散失),冷却,取 200 μL 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。

六、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。

七、糖原含量的计算：

1、按照样本鲜重计算

$$\begin{aligned}\text{糖原 (mg/g 鲜重)} &= 1.11 \times (C_{\text{标准}} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (W \times V1 \div V2) \\ &= 0.555 \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div W\end{aligned}$$

2、按照蛋白质含量计算

$$\begin{aligned}\text{糖原 (mg/mg prot)} &= 1.11 \times (C_{\text{标准}} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (V1 \times Cpr) \\ &= 0.111 \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div Cpr\end{aligned}$$

3、按照细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned}\text{糖原 (mg/10}^4\text{cell)} &= 1.11 \times (C_{\text{标准}} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (\text{细菌或细胞数量} \times V1 \div V2) \\ &= 0.555 \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div \text{细菌或细胞数量}\end{aligned}$$

1.11: 是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数, 即 111 μg 糖原用蒽酮试剂显色相当于 100 μg 葡萄糖用蒽酮所试剂显示的颜色; $C_{\text{标准}}$ 标准管: 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 10^4 为单位, 万个。

注意: 最低检测限为 10ng/g 鲜重或 0.1ng/mg prot。