

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

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。

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、微量石英比色皿/96孔板、浓硫酸（不允许快递）和蒸馏水。

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 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	-

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，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，加入0.75ml 提取液充分匀浆；转移至10ml试管中；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。

测定步骤：

- 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。
- 2、调节水浴锅至95℃。
- 3、试剂二工作液的配制：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；用不完的试剂4℃保存一周；

4、加样表（在 EP 管中反应）：

试剂（ μL ）	空白管	标准管	测定管
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 $200\mu\text{L}$ 转移至微量石英比色皿或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稀释倍数。

糖原含量的计算：

1、按照样本质量计算

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

2、按照蛋白质含量计算

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

1.11：是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数，即 $111\mu\text{g}$ 糖原用蒽酮试剂显色相当于 $100\mu\text{g}$ 葡萄糖用蒽酮所试剂显示的颜色；C 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：加入提取液体积， 5mL ；Cpr：样本蛋白质浓度， mg/mL ；W：样本鲜重，g。
注意：最低检测限为 10ng/g 鲜重或 0.1ng/mg prot 。