

糖原含量检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0128	糖原含量检测试剂盒 (分光光度计法)	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 10mL × 1 瓶: 0.1mg/mL 的葡萄糖标准液。	4℃
试剂二	粉剂 × 1 瓶:	4℃
试剂二工作液的配制: 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; 用不完的试剂 4℃ 保存一周。		

一、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。

本试剂盒采用蒽酮法的测定原理。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。

二、自备材料

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、蒸馏水。

三、样品制备

1、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。

2、细胞/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。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 620nm, 蒸馏水调零。
- 2、调节水浴锅至 95℃。
- 3、加样表 (在 EP 管中按照下表操作) :

试剂名称 (μL)	空白管	标准管	测定管
样本			250
试剂一		250	
蒸馏水	250		
试剂二	1000	1000	1000

混匀, 置 95℃ 水浴 10min (盖紧, 防止水分散失), 冷却, 于 620nm 波长处, 以蒸馏水调零, 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。

五、糖原含量的计算

- 1、按照样本蛋白浓度计算:

$$\text{糖原}(\text{mg}/\text{mg prot}) = 1.11 \times (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times (\text{A3} - \text{A1}) \div (\text{A2} - \text{A1}) \div (\text{V1} \times \text{Cpr})$$
$$= 0.111 \times (\text{A3} - \text{A1}) \div (\text{A2} - \text{A1}) \div \text{Cpr}.$$

- 2、按照样本鲜重计算:

$$\text{糖原}(\text{mg}/\text{g 鲜重}) = 1.11 \times (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times (\text{A3} - \text{A1}) \div (\text{A2} - \text{A1}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V2})$$
$$= 0.555 \times (\text{A3} - \text{A1}) \div (\text{A2} - \text{A1}) \div \text{W}.$$

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 标准管: 标准管浓度, 0.1mg/mL; V1: 加入反应体系中糖原提取液体积, 0.25mL; 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。

六、注意事项

- 1、空白管和标准管只需测一次。
- 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。
- 3、最低检测限为 10ng/g 鲜重或 0.1ng/ mg prot。