

## 糖原含量检测试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TDX070 微板法 96 样)

有效期: 3 个月

### 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:

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;

### 糖原提取:

1、细胞或细菌: 收集 500 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%,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。

2、组织:称取约 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。

### 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。

4、加样表(在 EP 管中反应):

试剂(uL)	空白管	标准管	测定管
糖原提取液			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 200 uL 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。空白管和标准管只要测一次。

### 糖原含量的计算：

1、按照样品质量计算

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

2、按照蛋白质含量计算

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

3、按照细菌、细胞个数计算

$$\begin{aligned}\text{糖原 (mg/g 鲜重)} &= 1.11 \times C \text{ 标准} \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (500 \div V \text{ 样总}) \\ &= 0.00111 \times (A3-A1) \div (A2-A1)\end{aligned}$$

1.11：是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数，即 111ug 糖原用蒽酮试剂显色相当于 100ug 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；V 样总：加入提取液体积，5mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g；500：细菌或细胞总数，500 万。