

糖原含量检测试剂盒说明书

(货号：ADS-F-TDX070 分光法 48 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、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。

试剂的组成和配制：

提取液：液体 50mL×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×2 瓶，4℃ 保存；

工作液的配制：临用前在每瓶试剂二中倒入 5mL 蒸馏水，缓慢倒入 20mL 浓硫酸，充分溶解混匀后使用。

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。

步骤和加样表（在 1.5mLEP 管中反应）：

试剂 (uL)	空白管	标准管	测定管
糖原提取液			250
试剂一		250	
蒸馏水	250		
试剂二	1000	1000	1000

混匀，置沸水中 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。

注意：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

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

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; C_{pr}: 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。