上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

糖原含量检测试剂盒(微量法)

货号： R41853

规格： 100T/96S

保质期：6个月

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
提取液-ES30	液体100ml×1瓶	2-8℃保存
试剂-A	粉剂×1瓶	2-8℃保存
试剂-B	粉剂×1瓶	2-8℃保存

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义：糖原 (Glycogen) 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。

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。

自备用品：

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。

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ES30 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，沸水浴 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 ES30 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 100℃。

3. 试剂-A 工作液的配制：在 试剂-A 中加入 1mL 蒸馏水，即为 10 mg/mL 葡萄糖溶液，再用蒸馏水稀释为 0.1 mg/mL 的溶液备用，现用现配。

4. 试剂-B 工作液的配制：在 试剂-B 中加入 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。

5. 加样表（在 EP 管中反应）：

试剂	空白管(ul)	标准管(ul)	测定管(ul)
待测样本			60
试剂-A		60	
蒸馏水	60		
试剂-B	240	240	240
混匀，沸水浴10min(盖紧，防止水分散失),冷却，取200μL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。			

注意：1. 空白管和标准管只要测1-2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。

计算公式：

1. 按照样本质量计算

糖原 (mg/g 鲜重) = (C 标准×V1)×(A3-A1)÷(A2-A1)÷(W×V1÷V2)÷1.11

= 0.45×(A3-A1)÷(A2-A1)÷W

2. 按照样本蛋白浓度计算

糖原 (mg/mg prot) = (C 标准×V1)×(A3-A1)÷(A2-A1)÷(V1×Cpr)÷1.11

=0.09×(A3-A1)÷(A2-A1)÷Cpr

3、按照细菌或细胞数量计算

糖原（mg/10^4 cell）= (C 标准×V1)×(A3-A1)÷(A2-A1)÷(细菌或细胞数量×V1÷V2) ÷1.11= 0.45×(A3-A1)÷（A2-A1)÷细菌或细胞数量

计算公式中：1.11：是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数，即 111ug 葡萄糖用蒽酮试剂显色相当于 100ug 糖原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，0.06mL；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；细菌或细胞数量：以 10^4 为单位，万个。