

糖原含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: AC10134

规格: 50T/48S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	粉剂×1 支	4°C保存
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C保存

溶液的配制:

1. 试剂一: 10 mg葡萄糖, 用前加1 mL蒸馏水充分溶解。再用蒸馏水稀释为0.05 mg/mL葡萄糖溶液备用, 现用现配。
2. 工作液的配制: 在试剂二中倒入10 mL蒸馏水, 缓慢倒入40 mL浓硫酸, 充分溶解混匀后使用。用不完的试剂4°C有效期一周。

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。

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。

技术指标:

最低检出限: 0.0016 mg/mL

线性范围: 0.003125-0.1 mg/mL

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

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。

操作步骤:**一、 样本处理（可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献）**

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, 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, 8000g 25°C离心10min, 取上清待测。

2□组织：称取0.1~0.2g样本，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振荡试管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，取上清待测。

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热30min 以上，调节波长至620nm，蒸馏水调零。
- 2、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			250
试剂一		250	
蒸馏水	250		
试剂二	1000	1000	1000

混匀，置沸水浴10min（盖紧，防止水分散失），冷却，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1-2次）

三、糖原含量的计算

- 1、按照样本质量计算

$$\text{糖原 (mg/g 质量)} = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (W \times V_1 \div V_2) \div 1.11 = 0.225 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div W$$

- 2、按照样本蛋白浓度计算

$$\text{糖原(mg/mg prot)} = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (V_1 \times C_{\text{pr}}) \div 1.11 = 0.045 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div C_{\text{pr}}$$

- 3、按照细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{糖原 (mg/10}^4 \text{ cell)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div (\text{细菌或细胞数量} \times V_1 \div V_2) \div 1.11 \\ &= 0.225 \times (A_3 - A_1) \div (A_2 - A_1) \div \text{细菌或细胞数量} \end{aligned}$$

1.11： 是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数，即111μg葡萄糖用蒽酮试剂显色相当于100μg糖原用蒽酮所试剂显示的颜色；C标准：标准管浓度，0.05mg/mL；V1：加入反应体系中糖原提取液体积，0.25mL；V2：样本总体积，5mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以10⁴为单位，万个。

注意事项：

如果吸光值大于 0.76，建议将样本用蒸馏水稀释后进行测定。

相关发表文献：

[1] Zheng J, Yu J, Jia M, et al. Indole enhances the survival of *Pantoea ananatis* YJ76 in face of starvation conditions[J]. *Journal of basic microbiology*, 2017, 57(7): 633-639.

[2] Xu L, Li Y, Yin L, et al. miR-125a-5p ameliorates hepatic glycolipid metabolism disorder in type 2 diabetes mellitus through targeting of STAT3[J]. *Theranostics*, 2018, 8(20): 5593.

[3] Ce Gu, Panpan Li, Wei Liu, et al. The role of insulin in transdifferentiated hepatocyte proliferation and function in serum-free medium. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. April 2019;(IF4.658)

参考文献：

[1] Raunkjær K, Hvitved-Jacobsen T, Nielsen P H. Measurement of pools of protein, carbohydrate and lipid in domestic wastewater[J]. *Water research*, 1994, 28(2): 251-262.

[2] Carroll N V, Longley R W, Roe J H. The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent[J]. J biol Chem, 1956, 220(2): 583-593.