

糖原含量检测试剂盒

Glycogen Assay Kit

微量法

货号: AK159

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液-ES30	100ml×1 瓶	4℃保存
AK159-A	粉剂×1 瓶	4℃保存
AK159-B	粉剂×1 瓶	4℃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。

测定操作过程:

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. AK159-A 工作液的配制: 在 AK159-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. AK159-B 工作液的配制: 在 AK159-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
AK159-A		60	

蒸馏水	60		
AK159-B	240	240	240

混匀，沸水浴 10min（盖紧，防止水分散失），冷却，取 200 μ L 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

$$\begin{aligned} \text{糖原 (mg/g 鲜重)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (W \times V1 \div V2) \div 1.11 \\ &= 0.45 \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div W \end{aligned}$$

2. 按照样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{糖原 (mg/mg prot)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (V1 \times Cpr) \div 1.11 \\ &= 0.09 \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div Cpr \end{aligned}$$

3. 按照细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{糖原 (mg/10}^4 \text{ cell)} &= (C \text{ 标准} \times V1) \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div (\text{细菌或细胞数量} \times V1 \div V2) \div 1.11 \\ &= 0.45 \times (A3-A1) \div (A2-A1) \div \text{细菌或细胞数量} \end{aligned}$$

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 111 μ g 葡萄糖用蒽酮试剂显色相当于 100 μ g 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 10⁴ 为单位，万个。