

Glycogen Content Assay Kit

糖原含量测定试剂盒(硫酸-蒽酮比色法) 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1809B	糖原含量测定试剂盒(硫酸-蒽酮比色法) 微板法	96T

产品简介:

糖原是由葡萄糖分子通过糖苷键聚合而成的高分子物质, 作为重要的能源物质储存于肝脏、肌肉和脑等重要器官。糖原的储存或代谢异常可引起多种疾病, 因此测定糖原含量的变化, 对研究糖原代谢及相关疾病有着重要的意义。

采用蒽酮法: 即利用强碱性提取液提取糖原, 浓硫酸是糖原脱水生产糖醛衍生物, 糖醛类与蒽酮作用, 在 620nm 处有最大吸收峰, 再与相同方法处理的葡萄糖标准液比色定量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉末×2 瓶	4℃保存	用前每瓶甩几下使粉剂落入底部, 再加 10mL 浓硫酸, 充分溶解混匀后使用; 用不完的试剂 4℃保存 4-5 天。
标准品	粉末×1 支	4℃保存	从标准管中称量取出 2mg 至一新离心管中, 再加 2mL 蒸馏水溶解即 1mg/mL 的葡萄糖标准品溶液, 再稀释 50 倍即 0.02mg/mL 标准品备用。

使用方法:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

一、样本准备

- 按照肝脏/肌肉样本质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 3 的比例加入提取液 (如取 0.1g 组织, 加 0.3mL 提取液), 盖紧管盖 (用封口膜封口) 95℃水解 20min, 室温冷却后即为本原水解液。
 - 肝糖原检测液: 在冷却后的糖原水解液离心管中加入 0.7mL 蒸馏水混匀总体积约 1mL, 8000rpm 室温离心 5min, 取上清液 100μL 至新离心管中, 再加 900μL 蒸馏水即上清液稀释 10 倍后作为检测液测定。
 - 肌糖原检测液: 在冷却后的糖原水解液离心管中加入 0.7mL 蒸馏水混匀总体积约 1mL, 8000rpm 室温离心 5min, 取上清液 200μL 至新离心管中, 再加 200μL 蒸馏水即上清液稀释 2 倍后作为检测液测定。
 - 糖原含量低的组织样本: 在冷却后的糖原水解液离心管中加入 0.7mL 蒸馏水混匀总体积约 1mL, 8000rpm 室温离心 5min, 取上清液作为检测液测定。
- 细胞/细菌样本:

先收集细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细胞加 0.25mL 提取液, 盖紧管盖 (用封口膜封口) 95℃水解 20min, 室温冷却后再加 0.25mL 蒸馏水混匀, 若浑浊则 8000rpm 室温离心 5min, 取上清液作为检测液测定。

【注】: 若增加样本量, 按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



3. 液体样品:

直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 620nm。

2. 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	空白管 (只做一次)	标准管 (只做一次)	测定管
蒸馏水	100	-	90
标准液	-	100	-
检测液	-	-	10
试剂一	200	200	200
混匀, 置 95°C 水浴 5min (盖紧, 防止水分散失), 冷却, 取 200 μL 转移至 96 孔板中, 于 620nm 读取吸光值 A。			

【注】: 若 A 测定管值在零附近, 可以增加测定管上样量 V 检测液 (如增至 40 μL), 蒸馏水相应减少, 则改变后的 V 检测液代入计算公式计算。

三、结果计算

1. 按样本重量计算:

$$\text{糖原}(\text{mg/g}) = (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \div (V_{\text{检测液}} \div V \times W) \div 1.11 \times D$$

$$= 0.0018 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (V_{\text{检测液}} \div V \times W) \times D$$

2. 按细胞数量计算:

$$\text{糖原}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \div (V_{\text{检测液}} \div V1 \times 500)$$

$$\div 1.11 \times D$$

$$= 1.8 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (V_{\text{检测液}} \div V1 \times 500) \times D$$

$V_{\text{标}}$ ---0.1mL

$V_{\text{检测液}}$ ---0.01mL

V---提取液总体积, 1mL

V1---细胞提取液, 0.5mL

$C_{\text{标准}}$ ---标准品浓度, 0.02mg/mL

W--取样量, g

500---细胞数量, 万

D---样本测试前稀释倍数, 肝糖原 D 值为 10, 肌糖原 D 值为 2

1.11---是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

4°C 保存三个月。

