

Glycogen Content Kit

糖原含量（酶法）测定说明书

货号: BN72471 | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

一、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。

本试剂盒采用酶法测定糖原含量,淀粉葡萄糖苷酶分解糖原成葡萄糖,葡萄糖被葡萄糖氧化酶氧化以产生与显色剂反应的(粉)红色产物,该产物在 510nm 处有最大吸收峰,通过校正游离的葡萄糖背景值进而得到糖原含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 1.3mL×1 支	4℃保存	
试剂二	液体 1.2mL×1 支	-20℃保存	
试剂三	三 A: 液体 16mL×1 瓶 三 B: 液体 8mL×1 瓶	4℃保存	临用前按照试剂三 A:三 B=2:1 的比例混合制备成 试剂三 mix (建议该混合液用多少配多少,且避光保存,且一周内用完)。
标准管	粉体 mg×1 支	4℃保存	从标准管中称量取出2mg至一新EP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5倍即0.2mg/mL标准品备用。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、蒸馏水。

四、糖原含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品和实验流程,避免样本和试剂浪费!

1、样本匀浆液制备:

- ① 组织样本:按照肝脏/肌肉样本质量(g):提取液体积(mL)为 1: 10 的比例加入提取液(如取 0.1g 组织,加 1mL 提取液),进行匀浆得到样本匀浆液。
- ② 细胞样本:先收集细胞到离心管内,离心后弃上清;取约 500 万细胞加入 1mL 提取液,超声波破碎细胞(冰浴,功率 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);得到样本匀浆液。

【注】:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

- ③ 液体样本:直接检测。若浑浊,离心后取上清检测。

2、上机检测:

- ① 酶标仪调节波长至 510nm,所有试剂解冻至室温(25℃)。
- ② 若是高糖原含量的肝脏样本,可用蒸馏水对样本匀浆液进行 2-5 倍稀释再按下表加样测定,在 EP 管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管
样本匀浆液	20	20
蒸馏水	55	80
95℃沸水浴 3min,冷却至室温继续加入		

试剂一	25	
混匀，37℃条件下孵育 1.5h(使糖原充分被水解为葡萄糖)， 12000rpm 离心 5min，取上清液待测。		

③ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
②步得到的上清液	10	10		
标准品			10	
蒸馏水				10
试剂二	10	10	10	10
试剂三	180	180	180	180
混匀，室温 (25℃) 条件下避光孵育 20min，510nm 下读取吸光值 A， ΔA 糖原=A 测定-A 对照 (每个样本做一个自身对照)。				

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{糖原含量(mg/g)} &= \Delta A \text{ 糖原} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (V_1 \div V_2) \div (V_{\text{匀浆液}} \div V \times W) \\ &\div 1.11 \times D \\ &= 0.9 \times \Delta A \text{ 糖原} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D \end{aligned}$$

2、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{糖原含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= \Delta A \text{ 糖原} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (V_1 \div V_2) \div (V_{\text{匀浆液}} \div V \times 500) \\ &\div 1.11 \times D \\ &= 1.8 \times \Delta A \text{ 糖原} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D \end{aligned}$$

3、按液体样本计算：

$$\begin{aligned} \text{糖原含量(mg/mL)} &= \Delta A \text{ 糖原} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (V_1 \div V_2) \div V_{\text{匀浆液}} \div 1.11 \times D \\ &= 0.9 \times \Delta A \text{ 糖原} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D \end{aligned}$$

4、按蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{糖原含量(mg/mg prot)} &= \Delta A \text{ 糖原} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (V_1 \div V_2) \div (V_{\text{匀浆液}} \div V \times \text{Cpr}) \\ &\div 1.11 \times D \\ &= 0.9 \times \Delta A \text{ 糖原} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div \text{Cpr} \times D \end{aligned}$$

V_标---0.01mL；

V_{匀浆液}---0.02mL；

V₁---②步中反应总体积，0.1mL；

V₂---③步中上清液体积，0.01mL；

V---提取液总体积，1mL；

C_{标准}---标准品浓度，0.2mg/mL；

W---取样量，g；

D---样本测试前稀释倍数，未稀释即为 1；

500---细胞数量，万；

1.11---是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。