

组织及血液糖原含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHB2-C48	组织及血液糖原含量试剂盒	48T	常量法

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。

试剂组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1支	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存

溶液的配制:

1. 试剂一：10 mg葡萄糖。用前加1mL蒸馏水充分溶解，2-8℃保存两周。
2. 工作液的配制：临用前取1瓶试剂二倒入5.5 mL蒸馏水，缓慢倒入22 mL浓硫酸，充分溶解混匀后使用。用不完的的试剂2-8℃保存一周。

操作步骤:

一、样本处理

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℃ 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，用手术剪尽量剪碎；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。

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、试剂一稀释：取5 μ L 10mg/mL葡萄糖标准液，加入995 μ L蒸馏水，充分混匀，配制成0.05 mg/mL葡萄糖溶液备用，现用现配。（实验中每管需要250 μ L，为减小实验误差，故配制大体积。）
- 3、加样表（在EP 管中反应）

试剂 (μ L)	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，取1mL转移至玻璃比色皿，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

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

2、按照样本蛋白浓度计算

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

3、按照细菌或细胞数量计算

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

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葡萄糖用葱酮试剂显色相当于100 μ g糖原用葱 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0.8，建议将样本用蒸馏水稀释后进行测定。