

糖原含量试剂盒-酶法（微板法）

产品货号：BA2773

产品规格：96样

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。

产品内容：

产品名称	规格	保存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体120mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体2.5mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	液体2.2mL×1瓶	-20℃	
试剂三	三A:液体28mL×1瓶 三B:液体14mL×1瓶	2-8℃，避光	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	粉剂mg×1支	2-8℃	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。

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。

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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂一	25	
混匀, 37°C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mix	180	180	180	180
混匀, 室温(25°C)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】

1. 若 A 测定值大于 0.8, 可用蒸馏水对②步得到的上清液进行稀释再测定, 则稀释倍数 D 代入公式计算;
2. 若ΔA 糖原的值在零附近, 可增加③中上清液的上样体积 V₂(如增至 40μL, 则试剂三相应减少), 则改变后的 V, 代入计算公式重新计算。

结果计算:

1. 按样本鲜重计算:

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

2. 按细胞数量计算:

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

3. 按液体样本计算:

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

4. 按蛋白浓度计算:

$$\text{糖原含量(mg/mg prot)} = \Delta A_{\text{糖原}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (V_1 \div V_2) \div (V_{\text{匀浆液}} \div V \times C_{\text{pr}}) \div 1.11 \times D \\ = 0.9 \times \Delta A_{\text{糖原}} \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div C_{\text{pr}} \times D$$

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;

C_{pr}---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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com