

糖原含量试剂盒(硫酸-蒽酮比色法)(分光法)

产品货号: BA3387

产品规格: 48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。

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。

产品内容:

产品名称	规格	保存条件	注意事项
提取液	液体15mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	粉剂2瓶	2-8°C, 避光	每瓶: 1. 开盖前注意使粉体落入底部(可手动甩一甩); 2. 加入15mL浓硫酸,充分溶解混匀后使用; 3. 用不完的试剂4°C保存4-5天。
标准品	粉剂1支	2-8°C	1. 从标准管中称量取出2mg至一新EP管中; 2. 加入2mL蒸馏水溶解即1mg/mL的葡萄糖标准品溶液; 3. 再稀释50倍即0.02mg/mL标准品备用; 4. 保存周期与试剂盒有效期相同。

实验器材:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、1ml比色皿、离心管、分光光度计、浓硫酸(不允许快递)、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

指标测定:

建议先选取1-3个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验,熟悉操作流程,根据预实验结果确定或调整样本浓度,以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1. 检测液制备:

A: 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°C水解20min,室温冷却后即即为糖原水解液。

①肝糖原检测液:在冷却后的糖原水解液EP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EP管中,再加900μL蒸馏水即上清液稀释10倍后作为检测液测定。

②肌糖原检测液:在冷却后的糖原水解液EP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EP管中,再加200μL蒸馏水即上清液稀释2倍后作为检测液测定。



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

③糖原含量低的组织样本：在冷却后的糖原水解液 EP 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。

B: 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 0.25mL 提取液，盖紧管盖（用封口膜封口）95°C 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，可按照细菌/细胞数量（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2. 上机检测:

① 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 620nm，蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂组分 (μL)	空白管 (只做一次)	标准管 (只做一次)	测定管
蒸馏水	300		270
标准液		300	
检测液			30
试剂一	600	600	600
混匀，置 95°C 水浴 5min (盖紧，防止水分散失)，冷却后转移至 1mL 比色皿中，于 620nm 处读取吸光值 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 60μL），蒸馏水相应减少，则改变后的 V 检测液代入计算公式计算。

结果计算:

1. 按样本重量计算:

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

$$= 0.0054 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_{\text{检测液}} \div V \times W) \times D$$

2. 按细胞数量计算:

$$\text{糖原}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \div (V_{\text{检测液}} \div V_1 \times 500) \div 1.11 \times D$$

$$= 5.45 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_{\text{检测液}} \div V_1 \times 500) \times D$$

3. 按蛋白浓度计算:

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

$$= 0.0054 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_{\text{检测液}} \div V \times C_{\text{pr}}) \times D$$

V 标---0.3mL; V 检测液---0.03mL; V---提取液总体积, 1mL; V1---细胞提取液, 0.5mL;

C 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;

Cpr---蛋白浓度 (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