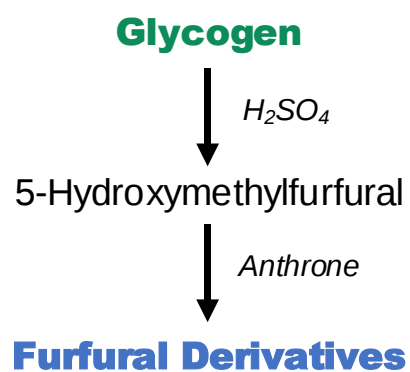




糖原含量检测试剂盒

Glycogen Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



糖原含量检测试剂盒

Glycogen Content Assay Kit

一、产品描述

糖原是一种由葡萄糖组成的支链聚合物，主要贮存在肝脏和肌肉中作为短期能量储存分子，分别称为肝糖原和肌糖原。肝糖原对维持血糖的相对平衡十分重要，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。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，再通过糖异生转变为肝糖原或葡萄糖。

糖原在强酸性条件下脱水生成 5-羟甲基糠醛，进一步与蒽酮反应生成蓝绿色糠醛衍生物，产物在 620 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测糖原的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
显色液	粉剂×3 瓶	4°C 避光保存	使用前每瓶中加入 5 mL 蒸馏水 再缓慢加入 20 mL 浓硫酸充分溶解 (根据使用量现用现配，4°C 可保存一周)
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 葡萄糖标准品)	4°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 葡萄糖标准液)
标准稀释液的制备：将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用蒸馏水稀释至 0.20、0.15、0.10、0.05、0.025、0.0125 mg/mL 即为标准稀释液。			

需自备试剂：浓硫酸 (H_2SO_4 , MM = 98.08, CAS: 7664-93-9)

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	1.0	1.0	1.0	1.0	0.05	0.025
标准液体积 (μL)	100	200	150	100	50	500	500
蒸馏水体积 (μL)	900	800	850	900	950	500	500
稀释后浓度 (mg/mL)	1.0	0.20	0.15	0.10	0.05	0.025	0.0125

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴、浓硫酸和蒸馏水。

1.样品处理（可根据预实验结果适当调整样本量）

①组织：称取 0.1-0.2 g 组织至 10 mL 试管/离心管中，加入 **0.75 mL 提取液**充分混匀，沸水浴处理 20 min（密封以防止水分散失），每隔 5 min 振荡混匀 1 次，待组织全部溶解后，冷却至室温，使用蒸馏水定容至 5 mL 即为匀浆液，取 1 mL 匀浆液 8000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

②细菌或细胞：离心收集 500-1000 万细菌或细胞至离心管内，加入 **0.75 mL 提取液**充分混匀，超声破碎细菌或细胞（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），转移至 10 mL 试管/离心管中，沸水浴处理 20 min（密封以防止水分散失），每隔 5 min 振荡混匀 1 次，冷却至室温，使用蒸馏水定容至 5 mL 即为匀浆液，取 1 mL 匀浆液 8000 g 常温离心 10 min，取上清液即为待测样本。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 620 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	250	-	-
标准稀释液	-	250	-
蒸馏水	-	-	250
显色液	1000	1000	1000
沸水浴处理 10 min（密封以防止水分散失）			
冷却至室温			

吸光值测定：吸取 1 mL 反应液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 620 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.20、0.15、0.10、0.05、0.025、0.0125 mg/mL 为横坐标 (x)，以其对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x(mg/mL)。

3.糖原含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{糖原 (mg/g)} = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times 0.9}{W} = \frac{4.5 \times x}{W}$$

②按组织蛋白含量计算

$$\text{糖原 (mg/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times 0.9}{\text{Cpr} \times V_{\text{样总}}} = \frac{0.9 \times x}{\text{Cpr}}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{糖原 (mg/10}^4 \text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times 0.9}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{4.5 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

注释： V 样总：待测样本总体积，5 mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计；0.9：葡萄糖折算为糖原的换算系数。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②浓硫酸具有强腐蚀性，操作时需特别注意，沸水浴显色结束后需冷却至室温再打开离心管盖，以防液体飞溅烧伤；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

