

糖原含量试剂盒(硫酸-蒽酮比色法)(微板法)

产品货号: BA3388

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。

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30mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂2瓶	2-8℃, 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10mL浓硫酸, 充分溶解混匀后使用; 3. 用不完的试剂4℃保存4-5天。
标准品	粉剂1支	2-8℃	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)、96孔板、离心管、酶标仪、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℃ 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。

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:



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzybio@126.com

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℃ 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（ 10^4 ）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2. 检测步骤：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 620nm，所有试剂解冻至室温（25℃）。

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	100		90
标准液		100	
检测液			10
试剂一	200	200	200
混匀，置 95℃ 水浴 5min（盖紧，防止水分散失），冷却，取 200 μL 转移至 96 孔板中，于 620nm 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 40 μL ），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：

$$\begin{aligned} \text{糖原}(\text{mg/g}) &= (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \div (\text{V 检测液} \div \text{V} \times \text{W}) \div 1.11 \times \text{D} \\ &= 0.0018 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{V 检测液} \div \text{V} \times \text{W}) \times \text{D} \end{aligned}$$

2. 按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{糖原}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times 10^3 \div (\text{V 检测液} \div \text{V1} \times 500) \div 1.11 \times \text{D} \\ &= 1.8 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{V 检测液} \div \text{V1} \times 500) \times \text{D} \end{aligned}$$

3. 按蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{糖原}(\text{mg}/\text{mg prot}) &= (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \div (\text{V 检测液} \div \text{V} \times \text{Cpr}) \div 1.11 \times \text{D} \\ &= 0.0018 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{V 检测液} \div \text{V} \times \text{Cpr}) \times \text{D} \end{aligned}$$

V 标---0.1mL； V 检测液---0.01mL； 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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com