

糖原含量测定说明书

(货号: G0561F 分光法 48 样)

一、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。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×2 瓶	4℃保存	用前每瓶甩几下使粉剂落入底部,再加 15mL 浓硫酸,充分溶解混匀后使用;用不完的试剂 4℃保存 4-5 天。
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃保存	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 50 倍即 0.02mg/mL 标准品备用。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、水浴锅、可调式移液器、浓硫酸(不允许快递)和蒸馏水。

四、糖原含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、检测液制备:

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,室温冷却后即成为糖原水解液。

- 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。

2、上机检测:

- ① 可见分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 620nm,蒸馏水调零。
- ② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (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 (盖紧用封口膜封口，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 60 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。

五、结果计算：

$$\text{糖原含量}(\text{mg/g}) = (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times (\text{C}_{\text{标准}} \times \text{V}_{\text{标}}) \times \text{D} \div (\text{V}_{\text{检测液}} \div \text{V} \times \text{W}) \div 1.11$$

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

$\text{V}_{\text{标}}$ ---0.3mL;

$\text{V}_{\text{检测液}}$ ---0.03mL;

W---取样量，g;

V---提取液总体积，1mL; $\text{C}_{\text{标准}}$ ---标准品浓度，0.02mg/mL;

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。