

Glycogen Content Kit

糖原含量（酶法）测定说明书

货号：G0590W96 | 方法：微板法 | 规格：96 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。

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。

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 120mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 2.5mL×1 支	4°C保存	
试剂二	液体 2.2mL×1 支	-20°C保存	
试剂三	三 A: 液体 28mL×1 瓶 三 B: 液体 14mL×1 瓶	4°C保存	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	粉体 mg×1 支	4°C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5倍即0.2mg/mL标准品备用。

三、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。

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°C）。

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（ μ L）	测定管	对照管
样本匀浆液	20	20

蒸馏水	55	80
95°C沸水浴 3min, 冷却至室温继续加入		
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)。				

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调;
针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算:

1、按样本鲜重计算:

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

2、按细胞数量计算:

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

3、按液体样本计算:

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

4、按蛋白浓度计算:

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

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。

