

糖原含量试剂盒（硫酸-蒽酮比色法） 检测试剂盒微板法

使用说明书

产品货号：BP10296W

注意：请在试剂盒保质期内使用，具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用，不能用于临床诊断。

检测范围：0.001-0.3mg/mL

灵敏度：0.001mg/mL

有效期：6个月

保存温度：2-8℃

检测原理:

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。

注意事项:

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
3. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
4. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

试剂盒组分：

试剂名称	规格（48T/46S）	规格（96T/94S）	保存条件
提取液	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃，避光
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、水浴锅、浓硫酸、蒸馏水。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 结合本试剂盒的线性范围: 0.001-0.3mg/mL, 样本稀释液为蒸馏水, 请对样本做适当的稀释或浓缩。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **组织样本:** 称取 0.1~0.2g 样品, 加入 0.75mL 提取液充分匀浆; 转移至 10mL 试管中; 95℃水浴 20min (盖紧, 防止水分散失), 隔 5min 振摇试管 1 次, 使充分混匀; 待组织全部溶解后, 取出试管冷却后, 用蒸馏水定容到 5mL, 混匀, 10000 g 25℃离心 10min, 取上清液待测。
4. **细胞或细菌样本:** : 收集 500~1000 万细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 加入 0.75mL 提取液超声波破碎细菌或细胞 (功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 转移至 10mL 试管中, 95℃水浴 20min (盖紧, 防止水分散失), 隔 5min 振摇试管 1 次, 使充分混匀; 取出试管冷却后, 用蒸馏水定容到 5mL, 混匀 10000 g25℃离心 10min, 取上清液待测。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **试剂一工作液配制**：取一瓶试剂一缓慢倒入 15mL 浓硫酸，充分溶解，务必超声或震荡 5min 混匀后使用，剩余的试剂 2-8℃ 保存一周。
3. **标准溶液的配制 (1mg/mL)**：取一瓶标准品，加 2mL 蒸馏水溶解，即为标准品母液 (1mg/mL)，取一新 EP 管加入 100 μ L 的标准品母液，再加入 900 μ L 的蒸馏水，即 0.1mg/mL 的标准品溶液，按需配制，现配现用。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min, 调节波长至 620nm。
2. 样本测定 (EP 管中加入如下试剂):

试剂名称(μ L)	标准管	测定管	空白管
蒸馏水			60
0.1mg/mL 标准品	60		
样本		60	
试剂一	240	240	240

务必拧紧瓶盖 (防止水分散失), 混匀, 95°C 精准水浴 5min, 取出后立刻流水冷却至室温, 取 200 μ L 转移至 96 孔板中, 在波长 620nm 处, 测定各孔 OD 值。

注:

1. 空白管和标准管只需测一次。
2. 若测定管的 ΔA 大于 2, 则需将样本进行稀释(用蒸馏水稀释), 稀释倍数 N 需代入计算公式重新计算。

实验结果结算：

1. 按照样本质量计算：

$$\text{糖原 (mg/g 鲜重)} = 1.11 \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{反}}) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (W \times V_{\text{反}} \div V_{\text{提}}) \\ \times N = 0.555 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times N$$

2. 按照蛋白质含量计算：

$$\text{糖原 (mg/mg prot)} = 1.11 \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{反}}) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (V_{\text{反}} \times C_{\text{pr}}) \times \\ N = 0.111 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times N$$

注：

$\Delta A_{\text{标准}}$ ：标准品 OD 值-空白孔 OD 值 $\Delta A_{\text{测定}}$ ：测定孔 OD 值-空白孔 OD 值

$C_{\text{标准}}$ ：标准品的浓度，0.1mg/mL N：样本稀释倍数

$V_{\text{反}}$ ：加入反应体系中糖原提取液体积，0.06mL $V_{\text{提}}$ ：加入提取液的体积，5mL

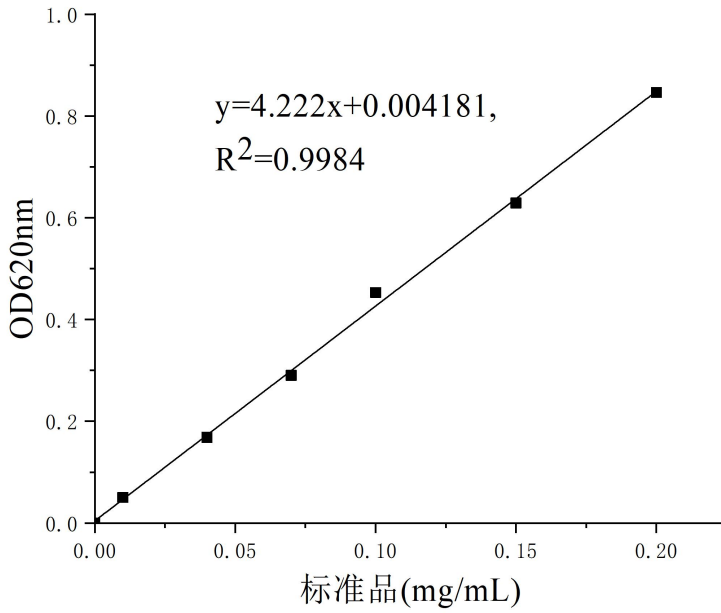
W：组织质量，g

Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL

1.11：是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数，即 111ug 糖原用蒽酮试剂显色相当于 100ug 葡萄糖用蒽酮所试剂显示的颜色

参考曲线:

$y=4.222x+0.004181$, $R^2=0.9984$, x 是标准品的浓度 (mg/mL), y 是 ΔA 。



注意: 本图仅供参考, 客户不用制作。