

糖原含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0340

规格：50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 45 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

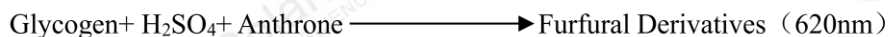
溶液的配制：

1. 工作液的配制：临用前取1瓶试剂一加入6.5mL试剂二（约30T），充分溶解后使用，如难溶解，可振荡溶解，用不完的试剂2-8℃可保存1周。
2. 标准品：临用前加1mL蒸馏水充分溶解，配制为10mg/mL的葡萄糖标准溶液，2-8℃保存4周。
3. 0.05 mg/mL葡萄糖标准品的配制：取50μL 10mg/mL葡萄糖标准品加入950μL蒸馏水，充分混匀，配制成为0.5mg/mL葡萄糖标准品，再取100μL 0.5mg/mL葡萄糖标准品加入900μL蒸馏水即0.05 mg/mL葡萄糖标准品。（实验中每管需要250μL，为减小实验误差，故配制大体积。）

产品说明：

糖原是由葡萄糖单位构成的高分子多糖，是糖的主要的储存形式之一，主要贮存在肝和肌肉中作为备用能量，分别称为肝糖原和肌糖原。肝糖原可调节血糖浓度，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。因此，肝糖原对维持血糖的相对平衡十分重要。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，随血液循环到肝脏，通过糖异生转变为肝糖原或葡萄糖。

测定原理：蒽酮法。利用强碱性提取液提取糖原，在强酸性条件下利用蒽酮显色剂测定糖原含量。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、10mL离心管、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、浓硫酸（>95%，AR）和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：称取0.1~0.2g样本，置于10mL离心管中，用手术剪尽量剪碎并进行匀浆；加入0.75mL提取液，置于沸水浴中煮沸20min（缠封口膜，防止爆盖），隔5min振摇1次，使其充分混匀；待组织全部溶解后，取出离心管冷却后，用蒸馏水定容到5mL，混匀，8000g 25℃离心10min，取上清液待测。





2. 细胞或细菌：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200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；转移至10mL离心管中，置于沸水浴中煮沸20min（缠封口膜，防止爆盖），隔5min振摇1次，使其充分混匀；取出离心管冷却后，用蒸馏水定容到5mL，混匀，8000g 25℃ 离心10min，取上清液待测。

注：推荐使用螺旋口或带锁扣EP管，防止爆盖。

二、测定步骤

1、分光光度计预热30min 以上，调节波长至620nm，蒸馏水调零。

2、加样表（在 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称（μL）	测定管	标准管	空白
样本	250	-	-
标准品	-	250	-
蒸馏水	-	-	250
工作液	210	210	210
浓硫酸	790	790	790

充分混匀，置于沸水浴10min（缠封口膜，防止爆盖），冷却，取1mL反应液至1mL玻璃比色皿，于620nm波长处，分别读取空白管、标准管和测定管吸光度，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。（空白管和标准管只要测1-2次）

注：1）推荐使用螺旋口或带锁扣EP管，防止爆盖；

2）工作液和浓硫酸不可提前混合进行实验，浓硫酸需要缓慢加入避免溅出，也可以将枪头插入液体内再加入；

3）反应结束后反应液中可能会有少量红色物质产生，为正常现象，不影响吸光值的测定。

三、糖原含量的计算

1、按照样本质量计算

$$\text{糖原}(\text{mg/g 质量}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (W \times V_1 \div V_2) \div 1.11 \times F = 0.225 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F$$

2、按照样本蛋白浓度计算

$$\text{糖原}(\text{mg/mg prot}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (V_1 \times C_{\text{pr}}) \div 1.11 \times F = 0.045 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F$$

3、按照细菌或细胞数量计算

$$\text{糖原}(\text{mg}/10^4 \text{ cell}) = (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (N \times V_1 \div V_2) \div 1.11 \times F = 0.225 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N \times F$$

1.11：是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数，即111μg葡萄糖用蒽酮试剂显色相当于100μg糖原用蒽酮所试剂显示的颜色；C标准：标准管浓度，0.05mg/mL；V1：加入反应体系中待测样本体积，0.25mL；V2：样本总体积，5mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细菌或细胞数量，以10⁴计；F：样本稀释倍数。

注意事项：

1. 浓硫酸具有强腐蚀性，请谨慎操作。
2. 试剂二挥发性强，使用后可缠绕封口膜封口，以防止试剂挥发过快。
3. 提取液会使蛋白变性，若使用蛋白浓度计算需另取组织。
4. 若 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.03$ ，建议增大样本量后测定；若 $\Delta A_{\text{测定}} > 1$ ，建议用蒸馏水稀释样本后进行测定，注意同步修改计算公式。



实验实例：

1、取 0.0501g 大鼠肝脏，进行样本处理，取上清液，用蒸馏水稀释 4 倍，之后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 A 空白=0.155，A 标准=0.663，A 测定=0.983，按样本质量计算含量得：

糖原含量(mg/g 质量)= $0.225 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F = 0.225 \times 0.828 \div 0.508 \div 0.0501 \times 4 = 29.28 \text{ mg/g 质量}$ 。

相关发表文献：

[1] Zheng ZG, Xu YY, Liu WP, Zhang Y, Zhang C, Liu HL, Zhang XY, Liu RZ, Zhang YP, Shi MY, Yang H, Li P. Discovery of a potent allosteric activator of DGKQ that ameliorates obesity-induced insulin resistance via the sn-1,2-DAG-PKCε signaling axis. *Cell Metab.* 2023 Jan 3;35(1):101-117.e11. doi: 10.1016/j.cmet.2022.11.012.

[2] Yu Y, Tong D, Yu Y, Tian D, Zhou W, Zhang X, Shi W, Liu G. Toxic effects of four emerging pollutants on cardiac performance and associated physiological parameters of the thick-shell mussel (*Mytilus coruscus*). *Environ Pollut.* 2023 Oct 1; 334:122244. doi: 10.1016/j.envpol.2023.122244. Epub 2023 Jul 21. PMID: 37482340.

[3] Liu M, Chen MY, An L, Ma SQ, Mei J, Huang WH, Zhang W. Effects of apolipoprotein E on regulating insulin sensitivity via regulating insulin receptor signalosome in caveolae. *Life Sci.* 2022 Nov 1;308:120929. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120929. Epub 2022 Sep 2. PMID: 36063979.

[4] Gu J, Qi Y, Lu Y, Tao Q, Yu D, Jiang C, Liu J, Liang X. Lung adenocarcinoma-derived vWF promotes tumor metastasis by regulating PHKG1-mediated glycogen metabolism. *Cancer Sci.* 2022 Apr;113(4):1362-1376. doi: 10.1111/cas.15298. Epub 2022 Feb 20. PMID: 35150045; PMCID: PMC8990721.

[5] Liu S, Meng F, Zhang D, Shi D, Zhou J, Guo S, Chang X. Lonicera caerulea Berry Polyphenols Extract Alleviates Exercise Fatigue in Mice by Reducing Oxidative Stress, Inflammation, Skeletal Muscle Cell Apoptosis, and by Increasing Cell Proliferation. *Front Nutr.* 2022 Mar 9; 9:853225. doi: 10.3389/fnut.2022.853225. PMID: 35356725; PMCID: PMC8959458.

参考文献：

[1] Raunkjær K, Hvitved-Jacobsen T, Nielsen P H. Measurement of pools of protein, carbohydrate and lipid in domestic wastewater[J]. *Water research*, 1994, 28(2): 251-262.

[2] Carroll N V, Longley R W, Roe J H. The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent[J]. *J biol Chem*, 1956, 220(2): 583-593.

相关系列产品：

BC2450/BC2455 植物组织果糖（FT）含量检测试剂盒

BC2540/BC2545 纤维素酶（CL）活性检测试剂盒

BC0330/BC0335 海藻糖含量检测试剂盒

BC2510/BC2515 海藻糖酶（THL）活性检测试剂盒

BC2520/BC2525 山梨醇含量检测试剂盒

BC2530/BC2535 山梨醇脱氢酶活性检测试剂盒

BC0230/BC0235 还原糖含量检测试剂盒

BC2490/BC2495 血糖含量检测试剂盒

