

糖原检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1176

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.003125–0.25mg/mL 灵敏度：0.003125mg/mL

适用样本：动物组织、细菌、细胞

产品简介

糖原是由葡萄糖构成的高分子多糖，是糖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和葡萄糖。本试剂盒可检测动物组织、细菌和细胞样本中糖原含量，其原理利用强碱性提取液提取糖原，在强酸性条件下与蒽酮显色剂形成在 620nm 处有特征吸收峰的蓝色化合物，在一定的浓度范围内，糖原含量与 620nm 吸光度成线性关系，根据标准曲线，即可计算出样品中糖原的含量。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
显色物	1	1	4℃避光保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 620nm 处的吸光度）

水浴锅、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水，浓硫酸

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

显色物：48T 先加 3mL 去离子水溶解粉末，然后缓慢加入 12mL 浓硫酸；96T 先加 6mL 去离子水溶解粉末，然后缓慢加入 24mL 浓硫酸，充分溶解混匀后使用。4℃避光保存，有效期为一周。

标准品：1mg/mL；4℃保存。

标准曲线设置：按下表所示用去离子水将 1mg/mL 标准品稀释为 0.25、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125 mg/mL 的标准溶液。

	标准品体积	去离子水体积 (μL)	浓度 (mg/mL)
Std. 1	100μL 1mg/mL	300	0.25
Std. 2	160μL of Std. 1	240	0.1
Std. 3	200μL of Std. 2	200	0.05
Std. 4	200μL of Std. 3	200	0.025
Std. 5	200μL of Std. 4	200	0.0125
Std. 6	200μL of Std. 5	200	0.00625
Std. 7	200μL of Std. 6	200	0.003125

样本制备

注意:

1. 动物组织: 称取 0.1g 样本剪碎, 置于 10mL 试管中, 加入 0.75mL 提取液, 置于沸水浴中煮沸 20min (塞紧试管塞, 防止水分蒸发), 每 5min 振摇试管 1 次, 充分混匀。待组织全部溶解后, 取出试管冷却后去离子水定容到 5mL, 混匀, 8,000g, 25℃ 离心 10min, 取上清液待测。
2. 细胞或细菌: 收集 500 万细菌或细胞到 EP 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 试管中, 置于沸水浴中煮沸 20min (塞紧试管塞, 防止水分蒸发), 每 5min 振摇试管 1 次, 充分混匀。取出试管冷却后去离子水定容到 5mL, 混匀, 8,000g, 25℃ 离心 10min, 取上清液待测。

注意: 推荐使用新鲜样本, 如果不立即进行实验, 样本可在-80℃保存 6 个月。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长到 620nm, 可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定: 在 EP 管中依次加入下列试剂:

	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)
样本	0	0	60
标准液	0	60	0
去离子水	60	0	0
显色物	240	240	240

3. 混匀, 置于 95℃水浴 10min (盖紧, 防止水分蒸发), 冷却, 取 200μL 转移至 96 孔板中, 620nm 波长处测定吸光值, 分别记为 $A_{\text{空白}}$, $A_{\text{标准}}$, $A_{\text{测定}}$, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意: 1. 提取液具有腐蚀性, 显色物 具有一定的毒性, 操作时请做好防护措施。

2. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1.5, 样本可用去离子水进一步稀释, 计算结果乘以稀释倍数, 或减少提取用样本量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制:

以标准液浓度为 y 轴, $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴, 绘制标准曲线 (浓度为 y 轴便于计算结果)。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代 x 计算出 y (mg/mL)。

2. 糖原含量计算:

(1) 按照样本质量计算:

糖原 (mg/g) = $1.11 \times (y \times V_{\text{样}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 5.55 \times y \div W \times n$

产品说明书

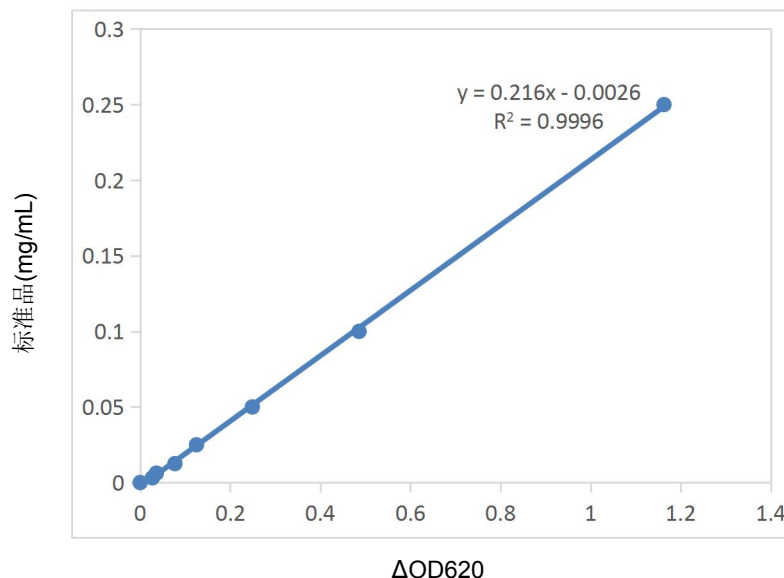
(2) 按照细菌或细胞数量计算:

糖原 (mg/10⁴ cells) = $1.11 \times (y \times V_{\text{样}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 5.55 \times y \div 500 \times n = 0.0111 \times y \times n$

1.11: 是此法测得葡萄糖含量换算为糖原含量的常数, 即 100 μg 葡萄糖用蒽酮试剂显色相当于 111 μg 糖原用蒽酮试剂所显之色; V_样: 加入反应体系中待测样本体积, 0.06 mL; W: 样本质量, g; V_{样总}: 样本总体积, 5mL; n: 稀释倍数; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考, 实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

PMK1164 葡萄糖检测试剂盒 (微量法)
PMK1197 总糖检测试剂盒 (微量法)
PMK1181 还原糖检测试剂盒 (微量法)
PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒 (微量法)
PMK1174 血糖检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

