

糖原含量测定说明书

(微板法 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。

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 30mL×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 10mL 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	液体×1 支	4℃ 保存	母液为 1mg/mL 葡萄糖，临用前用蒸馏水稀释 50 倍即 0.02mg/mL 葡萄糖待用。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、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 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 620nm，所有试剂解冻至室温（25℃）。
- 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	100		90
标准液		100	
检测液			10
试剂一	200	200	200

混匀，置 95℃水浴 5min（盖紧，防止水分散失），冷却，
取 200μL 转移至 96 孔板中，于 620nm 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 40μL），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：

$$\text{糖原含量(mg/g)} = (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \div (V_{\text{检测液}} \div V \times W) \div 1.11 \times D \\ = 0.0018 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V_{\text{检测液}} \div V \times W) \times D$$

$V_{\text{标}}$ ---0.1mL；

$V_{\text{检测液}}$ ---0.01mL；

W--取样量，g；

V---提取液总体积，1mL；

$C_{\text{标准}}$ ---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。