

糖原含量测定说明书

(分光法 48 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 15mL×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 15mL 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（现配现用）。 |

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、水浴锅、可调式移液器、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 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 620nm，蒸馏水调零。
- 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 | 300 | | 270 |
| 标准液 | | 300 | |
| 检测液 | | | 30 |

| 试剂一 | 600 | 600 | 600 |
|---|-----|-----|-----|
| 混匀，置 95℃ 水浴 5min（盖紧用封口膜封口，防止水分散失），冷却后转移至 1mL 比色皿中，于 620nm 处读取吸光值 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 60μL），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：

$$\begin{aligned} \text{糖原含量(mg/g)} &= (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times D \div (V_{\text{检测液}} \div V \times W) \div 1.11 \\ &= 0.0054 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \div (V_{\text{检测液}} \div V \times W) \end{aligned}$$

$V_{\text{标}}$ ---0.3mL;

$V_{\text{检测液}}$ ---0.03mL;

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。