

CheKine™ 糖原含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1340

规格: 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	检测范围: 0.003125-0.25 mg/mL		灵敏度: 0.003125 mg/mL
	适用样本: 动物组织、细菌、细胞		
	保质期: 4℃, 避光保存 12 个月		

01 背景与原理

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。

本试剂盒检测原理是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 620 nm 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 620 nm 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。

02 包装清单

试剂盒组分	规格	储存要求
	96 T	
Extraction Buffer	120 mL	4℃
Chromogen	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
Standard	1 mL	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 620 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水、浓硫酸/PBS	试剂稀释用/样本清洗用
其他	匀浆器（组织样本）、低温离心机、水浴锅、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

注意：各组分开盖前，请先低速离心。

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；Extraction Buffer 具有腐蚀性，操作时请做好防护措施
Chromogen	先加 7.2 mL 去离子水溶解粉末，然后缓慢加入 28.8 mL 浓硫酸，充分溶解混匀后使用	未用完的试剂 4℃避光保存一周；Chromogen 具有一定的毒性，操作时请做好防护措施
Standard	即用型；使用前平衡至室温；1 mg/mL	4℃保存

05-1-2 标准品配制

按下表所示, 使用 1 mg/mL Standard 用去离子水稀释为 0.25、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125 mg/mL 的标准溶液。每次实验都要做一次标准品检测, 制作标曲; 稀释后的标准品溶液不稳定, 必须在 4 小时内使用。

序号	标准品 (μL)	去离子水体积 (μL)	浓度 (mg/mL)
1	100 μL 1 mg/mL	300	0.25
2	160 μL of 0.25 mg/mL	240	0.1
3	200 μL of 0.1 mg/mL	200	0.05
4	200 μL of 0.05 mg/mL	200	0.025
5	200 μL of 0.025 mg/mL	200	0.0125
6	200 μL of 0.0125 mg/mL	200	0.00625
7	200 μL of 0.00625 mg/mL	200	0.003125
空白	0	400	0

05-2 样本制备

注意: 样本以新鲜为宜, 若不能立刻检测, 应储存在-80℃保存 1 个月。

- **动物组织:** 称取 0.1 g 样本, 置于 10 mL 试管中, 加入 0.75 mL Extraction Buffer, 置于沸水浴中煮沸 20 min (塞紧试管塞, 防止水分蒸发), 每 5 min 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 5 mL, 混匀, 8000 g, 25℃ 离心 10 min, 取上清液待测。
- **细胞或细菌样本:** 收集 5×10⁶ 个细胞或细菌, 用冷的 PBS 清洗细胞或细菌, 800 g 离心 2 min 后弃上清, 加入 0.75 mL Extraction Buffer, 冰浴超声波破碎 5 min (功率 20%或 200 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 重复 30 次); 转移至 10 mL 试管中, 置于沸水浴中煮沸 20 min (塞紧试管塞, 防止水分蒸发), 每 5 min 振摇试管 1 次, 充分混匀。取出试管冷却后去离子水定容到 5 mL, 混匀, 8000 g, 25℃ 离心 10 min, 取上清液待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备:** 预热 30 min 以上, 调节波长到 620 nm。
2. **检测体系配制:** 在 1.5 mL EP 管中依次按照如下方式操作

试剂	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)
样本	0	0	60
Standard	0	60	0
去离子水	60	0	0
Chromogen	240	240	240

3. **吸光度检测:** 混匀, 置于 95℃ 水浴 10 min (盖紧, 防止水分蒸发), 冷却, 取 200 μL 转移至 96 孔板中, 测定 620 nm 处的吸光值, 分别记为 A_{空白}, A_{标准}, A_{测定}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网 [\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

$$\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}, \quad \Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$$

2. 标准曲线绘制

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

3. 样本糖原计算

- 按样本质量计算：

$$\text{糖原}(\text{mg/g}) = (y \times V_{\text{样}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 1.11 \times n = 4.5 \times y \div W \times n$$

- 按样本蛋白浓度计算

$$\text{糖原}(\text{mg/mg prot}) = (y \times V_{\text{样}}) \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div 1.11 \times n = 4.5 \times y \div \text{Cpr} \times n$$

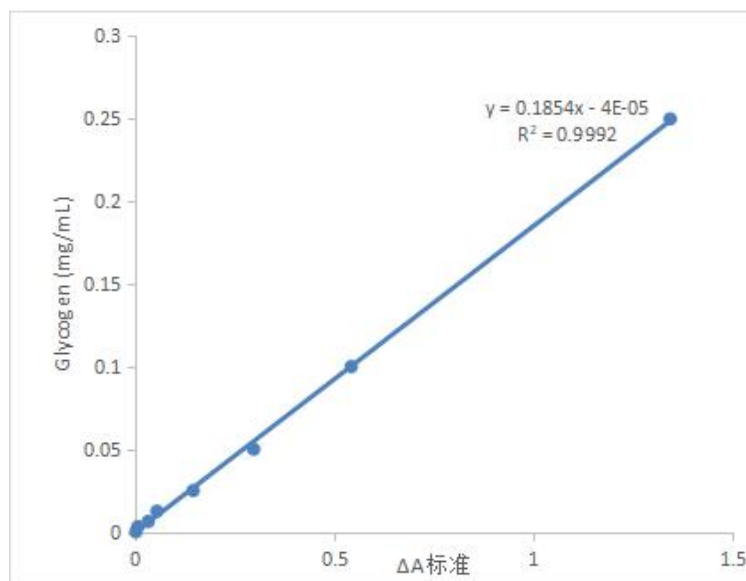
- 按细菌或细胞数量计算：

$$\text{糖原}(\text{mg}/10^4) = (y \times V_{\text{样}}) \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 1.11 \times n = 4.5 \times y \div N \times n$$

1.11：是此法测得糖原含量换算为葡萄糖含量的常数（糖原含量 $\times 1.11$ =葡萄糖含量），即 100 μg 糖原用蒽酮试剂显色相当于 111 μg 葡萄糖用蒽酮试剂所显之色； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中待测样本体积，0.06 mL；W：样本质量，g； $V_{\text{样总}}$ ：样本总体积，5 mL；n：稀释倍数；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；N：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ， $N=500$ ）。

07 结果展示

典型标准曲线： $y=0.1854x-0.00004$ ， $R^2=0.9992$



示例-1：取 0.1 g 小鼠肾脏，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得： $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.413 - 0.078 = 0.335$ 代入标准曲线，计算 $y=0.062$ 。按样本质量计算得：糖原(mg/g)= $4.5 \times y \div W \times n = 2.79$ mg/g。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

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。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1320	CheKine™ 植物可溶性糖含量检测试剂盒（微量法）
KTB1330	CheKine™ 血糖含量检测试剂盒（微量法）
KTB1350	CheKine™ 总糖含量检测试剂盒（微量法）
KTB1360	CheKine™ 还原糖含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 糖原含量检测流程示意图

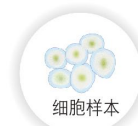
(Abbkin 货号：KTB1340)

样本处理



动物组织

加入**0.75 mL** Extraction Buffer，置于沸水浴中煮沸**20 min**（塞紧试管塞，防止水分蒸发），每**5 min**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**5 mL**，混匀



细胞样本



细菌样本

收集清洗的细胞或细菌
加入**0.75 mL** Extraction Buffer，冰浴超声波破碎**5 min**（功率20%或200 W，超声3 s，间隔7 s，重复30次）；转移至**10 mL**试管中，置于沸水浴中煮沸**20 min**（塞紧试管塞，防止水分蒸发），每**5 min**振摇试管1次，充分混匀。取出试管冷却后去离子水定容到**5 mL**



8,000 g，**25°C**离心**10 min**，取上清



体系配置



样本 Chromogen **60 μ L**
240 μ L



空白管
去离子水 Chromogen **60 μ L**
240 μ L

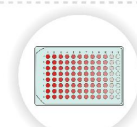
标准品配制



Standard Chromogen **60 μ L**
240 μ L

混匀，置于**95°C**水浴**10 min**

冷却后，取**200 μ L**至96孔板中



数据检测

测定**620 nm**吸光度
结果计算