

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K073-S

产品规格: 50 assays(48 samples)/ 100 assays(96 samples)

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计 (620 nm)

Elabscience[®]肝/肌糖原比色法测试盒

Glycogen Colorimetric Assay Kit

(Liver/Muscle Samples)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测动物肝脏、肌肉中的糖原含量。

检测原理

糖原在浓硫酸的作用下可脱水生成糠醛衍生物，后者与蒽酮生成蓝色化合物，与同法处理的葡萄糖标准溶液在 620 nm 波长处比色定量。糖原在浓碱溶液中非常稳定，故在显色之前先将组织放在浓碱溶液中加热以破坏其他成分而保留糖原。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1(Size 1) (50 assays)	规格 2(Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	碱溶液 (Alkali Reagent)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	葡萄糖标准品 (Glucose Standard Solution)	1 mL×1 支	1 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	蒽酮 (Anthracenone)	粉剂×6 支	粉剂×12 支	2-8℃避光 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：紫外-可见分光光度计（620 nm）、恒温水浴箱、涡旋混匀仪、磁力搅拌器、烧杯（25 mL）、量筒（50 mL）。

耗材：枪头（1000 μL ，200 μL ，10 μL ）、玻璃试管（5 mL）、吸水纸、擦镜纸、磁力搅拌子。

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）、浓硫酸。

试剂准备

① 试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 0.01 mg/mL 葡萄糖标准品的配制：

按试剂二：双蒸水为 1:99 的体积比混匀，现用现配，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存一天。

③ 试剂三工作液的配制：

取试剂三粉剂 1 支用 20 mL 浓硫酸溶解，现用现配，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存 2 小时。（如颜色较深或发黑，舍弃）

试剂三工作液配制过程中的注意事项：

① 浓硫酸浓度必须是 95-98% 的分析纯且开瓶不能太久（开瓶太久浓度会降低）。

② 配制试剂三工作液的容器和量筒必须绝对干燥，否则会使试剂三无法完全溶解。

③ 注意个人防护。

样本准备

① 样本处理

组织样本

a. 取样：取新鲜肝脏、肌肉样本用生理盐水漂洗后，滤纸吸干，称重（样本重量 $<100\text{ mg}$ 为宜）。

b. 水解：按样本重量（mg）：试剂一（ μL ）为 1:3 的比例，一起加入试管中，沸水浴煮 20 min，流水冷却。（注：煮前用保鲜膜将试管扎紧，然后在保鲜膜上扎一个孔。）

c. 将糖原水解液进一步制备成糖原检测液：1%肝糖原检测液，需加双蒸水的量为： $\text{肝脏重量} \times 100 - \text{肝脏重量} \times 4 = \text{肝脏重量} \times 96$

5%肌糖原检测液，需加双蒸水的量为： $\text{肌肉重量} \times 20 - \text{肌肉重量} \times 4 = \text{肌肉重量} \times 16$ （注：4 为水解时试剂一与组织的体积数。）

例如：取 80 mg 肝组织，需加 240 μL 试剂一水解，配制成 1%肝糖原检测液，需加双蒸水的量为： $80 \times 96 = 7680\ \mu\text{L}$ 。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的检测范围在1.80-180 mg/g肝组织或0.36-36 mg/g肌组织，选取检测范围内的稀释倍数，进行正式批量实验。

注：稀释液为双蒸水或生理盐水（0.9% NaCl）。

实验关键点

- ① 此实验必须在玻璃试管中进行。
- ② 水浴加热温度控制在 95°C 以上。

操作步骤

- ① 空白管：取 1.0 mL 双蒸水加入到玻璃试管中。
标准管：取 1.0 mL 0.01 mg/mL 葡萄糖标准品加入到玻璃试管中。
测定管：取 0.1 mL 肝/肌糖原检测液加入到玻璃试管中，再加入 0.9 mL 双蒸水。
- ② 向步骤①中的各管加入 2.0 mL 试剂三工作液，涡旋混匀。
- ③ 用保鲜膜扎紧试管口，并在上面扎一个小洞，100°C 恒温水浴 5 min，取出后立刻流水冷却至室温。
- ④ 波长 620 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定 OD 值。

操作表

	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (mL)	1.0	--	0.9
0.01 mg/mL 葡萄糖标准品 (mL)	--	1.0	--
肝/肌糖原检测液 (mL)	--	--	0.1
试剂三工作液 (mL)	2.0	2.0	2.0
涡旋混匀，用保鲜膜扎紧试管口，并在上面扎一个小洞，100°C 水浴 5 min，取出后立刻流水冷却至室温，波长 620 nm，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定 OD 值。			

结果计算

$$\text{糖原含量} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g 组织}} \right) = \frac{\Delta A_1}{\Delta A_2} \times m \times f \times 10^* \div 1.11^*$$

注解:

ΔA_1 : 样本的绝对 OD 值 (测定 OD 值-空白 OD 值)

ΔA_2 : 标准品的绝对 OD 值 (标准 OD 值-空白 OD 值)

m: 标准品含量 (0.01 mg)

f: 组织进行糖原检测液制备过程中稀释倍数, 如 1% 肝糖原检测液, $f = 100$;
5% 肌糖原检测液, $f = 20$

10^* : 测试过程中的糖原检测液的稀释倍数。

1.11^* : 葡萄糖含量换算为糖原含量的系数, 即 100 μg 糖原用蒽酮试剂显色的颜色相当于 111 μg 葡萄糖显色的颜色。

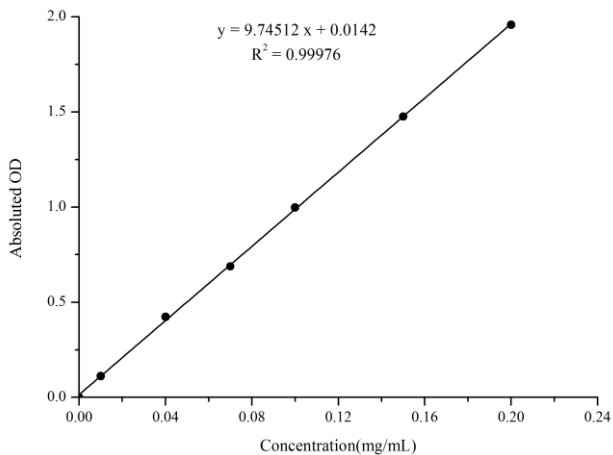
附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	1.80-180 mg/g 肝组织 0.36-36 mg/g 肌组织	灵敏度	1.80 mg/g 肝组织 0.36 mg/g 肌组织
平均批间差	7.3 %	平均批内差	3.7 %
平均回收率	101 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 标准曲线（数据仅供参考）：



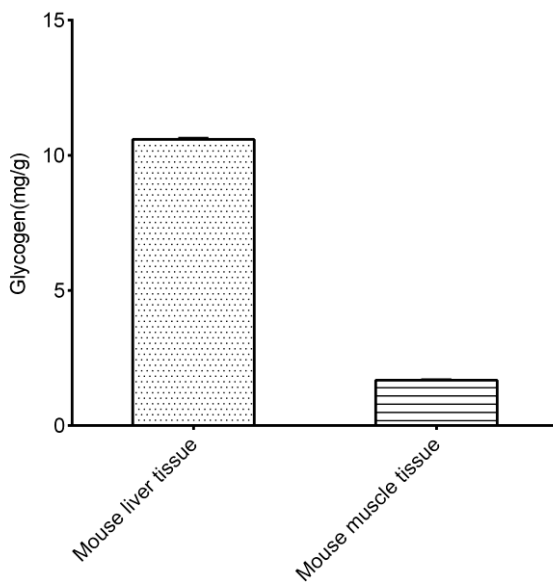
附录2 实例分析

例如检测小鼠肝脏组织：(数据仅供参考)：

按说明书操作，结果如下：空白管平均OD值为0.181，标准管平均OD值为0.331，测定管平均OD值为0.358，计算结果为：

$$\text{糖原含量 (mg/g组织)} = \frac{0.358-0.181}{0.331-0.181} \times 0.01 \times 100 \times 10 \div 1.11 = 10.63 \text{ mg/g组织}$$

按照说明书操作，测定小鼠肝脏组织(1%肝糖原检测液)、肌肉组织(5%肌糖原检测液)中的糖原含量(如下图)：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	微量移液器使用不熟练	小心加样,避免液体溅到其它测样管中
	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本和标准品显色很低	孵育时间太短或温度较低	保证充足的孵育时间和温度
样本测不出值	样本稀释倍数太大	升高样本检测液制备过程中的组织浓度,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测
样本测量结果超过检测范围高点值	样本浓度太高	选择合适的稀释倍数,重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Mu X, Xiang Z, Xu Y, et al. Glucose metabolism controls human $\gamma\delta$ T-cell-mediated tumor immunosurveillance in diabetes[J]. Cellular & Molecular Immunology. IF:22.096
2. Tseng S.Ja. An acid degradable, lactate oxidizing nanoparticle formulation for non-small cell lung cancer virotherapy[J]. Nano Today. IF:18.962
3. Zhang H, Zheng Q, Guo T, et al. Metabolic reprogramming in astrocytes results in neuronal dysfunction in intellectual disability. Mol Psychiatry. 2022. IF:15.992
4. Salman T M, Iyanda M A, Alli-Oluwafuyi A M, et al. Telfairia occidentalis stimulates hepatic glycolysis and pyruvate production via insulin-dependent and insulin-independent mechanisms[J]. Metabolism Open, 2021, 10(1-10):100092. IF:8.694
5. Li Q, Peng J, Luo Y, et al. Far infrared light irradiation enhances A β clearance via increased exocytotic microglial ATP and ameliorates cognitive deficit in Alzheimer's disease-like mice. J Neuroinflammation. 2022; 19 (1):145. IF:7.573
6. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. Pharmacological Research, 2019, 147, 104357. IF:5.574
7. Daily Dose of Bovine Lactoferrin Prevents Ethanol-Induced Liver Injury and Death in Male Mice by Regulating Hepatic Alcohol Metabolism and Modulating Gut Microbiota[J]. Molecular Nutrition & Food Research. IF:5.426
8. Wang Y, Xie W, Feng Y, et al. Epithelial-derived exosomes promote M2 macrophage polarization via Notch2/SOCS1 during mechanical ventilation. Int J Mol Med. 2022; 50 (1). IF:5.314
9. Yu C, Wang D, Tong Y, et al. Trans -Anethole Alleviates Subclinical Necro-Haemorrhagic Enteritis-Induced Intestinal Barrier Dysfunction and Intestinal Inflammation in Broilers. Front Microbiol. 2022; 13:831882. IF:5.259
10. Xu Y , Zhang Y , Xu Y , et al. Activation of CD137 signaling promotes macrophage apoptosis dependent on p38 MAPK pathway-mediated mitochondrial fission[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2021 Jul; 136:106003. IF:5.085
11. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. Life Sciences 266 (2021) 118876. IF:5.037

12. Zhong J, Sun P, Xu N, et al. Canagliflozin inhibits p-gp function and early autophagy and improves the sensitivity to the antitumor effect of doxorubicin[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2020, 175: 113856. IF:4.96
13. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
14. Laurian R, Ravent J, Dementhon K, et al. *Candida albicans* Hexokinase 2 Challenges the *Saccharomyces cerevisiae* Moonlight Protein Model[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(4):848. IF:4.128
15. Liu J, Duan P, Xu C Y, et al. CircRNA circ-ITCH improves renal inflammation and fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice by regulating the miR-33a-5p/SIRT6 axis[J]. *Inflammation Research*, 2021. IF:4.114
16. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
17. Sohini Sen, Shaunak Ghosh, Sayantan De, et al. Immunomodulatory and antimicrobial non-mulberry *Antheraea mylitta* silk fibroin accelerates in vitro fibroblast repair and regeneration by protecting oxidative stress[J]. *RSC Advances*, 2021 May; 11(31):19265-19282. IF:3.361
18. Li Jianda, Yuan Chen, Liu Peng et al. Red blood cells serve as a vehicle for PEDV transmission.[J]. *Vet Microbiol*, 2021, 257: 109081. IF:3.293
19. Ali A, Elsherbiny D, Azab S, et al. The diuretic amiloride attenuates doxorubicin-induced chemobrain in rats: Behavioral and mechanistic study[J]. *Neurotoxicology*, 2021, 88:1-13. IF:3.088
20. Yang H, Gan S, Jiang Z, et al. Protective effects of essential oil from *Fructus Alpiniae zerumbet* on retinal Müller gliosis via the PPAR- γ -p-CREB signaling pathway[J]. *Chinese Medicine*, 2020, 15(1): 4. IF:2.96
21. Chen Wenqi, Li Yuehua, Zhong Jing et al. circ-PRKCI targets miR-1294 and miR-186-5p by downregulating FOXK1 expression to suppress glycolysis in hepatocellular carcinoma.[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23: undefined. IF:2.952
22. Cui Y, Wang Y, Liu G. Protective Effect of Barbaloin in a Rat Model of Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Through the Regulation of the CNPY2 \uparrow PERK Pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019. IF:2.928

23. Li H, Xia T, Guan Y, et al. Sevoflurane Regulates Glioma Progression by Circ_0002755/miR-628-5p/MAGT1 Axis[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, 12: 5085. IF:2.886
24. Cheng F, Yu J, Zhang X, et al. CircSEC31A Promotes the Malignant Progression of Non-Small Cell Lung Cancer Through Regulating SEC31A Expression via Sponging miR-376a[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, Volume 12:11527-11539. IF:2.886
25. Sanjeev S, Murthy M K, Devi M S, et al. Isolation, characterization, and therapeutic activity of bergenin from marlberry (*Ardisia colorata* Roxb.) leaf on diabetic testicular complications in Wistar albino rats[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019: 1-20. IF:2.8
26. Dede A, Arslanyolu M. The in vivo *Tetrahymena thermophila* extracellular glucose drop assay for characterization of mammalian insulin activity[J]. *European Journal of Protistology*, 2021, 79(1):125803. IF:2.432
27. Wang F, Chen H, Chen Y, et al. Diet-induced obesity is associated with altered expression of sperm motility-related genes and testicular post-translational modifications in a mouse model[J]. *Theriogenology*, 2020. IF:2.094
28. Bhargava P, Verma V K, Malik S, et al. Hesperidin Regresses Cardiac Hypertrophy by Virtue of PPAR- γ Agonistic, Anti-Inflammatory, Antiapoptotic, and Antioxidant Properties[J]. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 2019: e22283. IF:1.837
29. Adeyemi W J, Abdussalam T A, Abdulrahim A, et al. Elevated, sustained, and yet reversible biotoxicity effects of lead on cessation of exposure: Melatonin is a potent therapeutic option[J]. *Toxicology and Industrial Health*, 2020, 36(7): 477-486. IF:1.708
30. Ustunova S, Takir S, Yilmazer N, et al. Hydrogen sulphide and nitric oxide cooperate in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart[J]. *in vivo*, 2020, 34(5): 2507-2516. IF:1.541