

Glykogen

Prinzip

Glykogen wird nach einer Methode bestimmt, die Van Handel (1984, 1985) für die Glykogenmessung in Insekten beschrieben hat. Sie wurde von Del Don (1992) für die Anwendung in der Mikrobiologie modifiziert. Die Zellen werden in saurer Lösung lysiert, anschliessend extrahiert man Bakteriochlorophyll und lösliche Zucker mit Methanol. Saures Anthronreagens hydrolysiert das im Pellet verbleibende Glykogen und bildet mit den Aldehydgruppen der Zuckermonomere einen grünen Farbkomplex, dessen Extinktion bei 620 nm gemessen wird.

Anwendungsbereich/Störungen

Daten zur Glykogeneichkurve

Element	Glykogen
Eichgerade	$y = -1.1461 + 110.15c \quad R^2 = 0.994$
Gültigkeitsbereich in [mg/Ansatz]	10-120
LQDC (mg)	1.4628
Rel. Standardfehler <5% für Masse c in [mg/Ansatz]	10-120
Rel. Standardfehler >5% für Masse c in [mg/Ansatz]	0-10

LQDC lowest quantitatively determinable concentration

Nach dem Aufschluss der Zellen und der Ethanolextraktion von Pigmenten und löslichen Kohlehydraten liegen im Pellet neben Glykogen auch einige andere Zuckeroligomere vor, die mit Anthron reagieren. Sie entsprechen nach Del Don (1992) 0.0076 µg Glucoseäquivalenten pro µg Zellprotein. Die Bestimmung von Glykogen wird demzufolge jeweils um 0.76% korrigiert, obwohl die Abweichung in Bezug zum Messfehler wohl nicht signifikant ist.

Reagenzien

- 2% Natriumsulfat (2 g Na₂SO₄ in 100 ml destilliertem Wasser lösen).
- Methanol
- Anthronreagens: 150 ml destilliertes H₂O + 380 ml konzentrierte H₂SO₄ + 750 mg Anthron
Wasser und Säure im Eisbad langsam mischen (Augen schützen), anschliessend das Anthron darin lösen. Das Reagens ist vor Licht geschützt im Kühlschrank mehrere Wochen haltbar.

Vorgehen

- Lyophilisierte Biomasse aus 25 ml Bakterienprobe aus dem See oder 1 ml gut gewachsene Laborkultur.
- Zugabe von 200 µl 2% Na₂SO₄, mischen, 10 Minuten lang im Wasserbad bei 70°C lysieren
- Mischen, auskühlen lassen.
- Zugabe von 1 ml Methanol, mischen und kurz stehen lassen, dann 1 Minute lang bei 2500 rpm zentrifugieren und Methanolextraktion noch ein- bis zweimal wiederholen (bis das Pellet weiss ist).
- Zugabe von 5 ml saurem Anthronreagens, mischen und 15 Min. lang im Wasserbad (85°C) stehen lassen.
- Reaktion in Eiswasser stoppen, mischen.
- Absorption in 1 cm-Küvette bei 620 nm gegen Blindwert messen.
- **Als Eichstandards** werden unterschiedliche Verdünnungen einer Stammlösung von 10 mg Glykogen/ml verwendet.

Literatur

- Del Don C, Hanselmann K, Peduzzi R, Bachofen R. 1994. Biomass composition and methods for the determination of metabolic reserve polymers in phototrophic sulfur bacteria. *Aquat. Sci.* 56:1-15
- Känel B, Mez K. 1992. *Vielfalt und Dynamik mikrobieller Stoffwechselaktivitäten in der Redoxtransitionszone des Lago di Cadagno*. Diplomarbeit Universität Zürich
- Van Handel E. 1984. Metabolism of nutrients in the adult mosquito. *Mosquito News* 44:573-579
- Van Handel E. 1985. Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1:299-301