

甘油三酯 (triglyceride, TG) 含量试剂盒说明书

(货号: G0910F 分光法 48 样)

一、产品简介:

甘油三酯 (TG) 是三分子长链脂肪酸和甘油形成的脂肪分子, 不仅是细胞膜的主要成分, 也是重要呼吸底物。

甘油三酯 (TG) 被脂蛋白脂肪酶水解为甘油和游离脂肪酸。甘油接着被甘油激酶 (GK) 的催化生成甘油-1-磷酸 (G-1-P)。G-1-P 被甘油磷酸氧化酶 (GPO) 氧化生成过氧化氢 (H_2O_2)。(H_2O_2) 与 4-氨基氨基替吡啉等反应生成红色醌类化合物, 其在 510nm 处有特征吸收峰, 通过检测 510nm 处吸光值即可得出 TG 含量。

二、试剂盒的组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	4°C 保存	使用前甩几下使试剂落入底部, 再加 2.2mL 蒸馏水, 充分震荡溶解备用。
试剂二	液体 18mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂三	粉剂 mg×1 支	-20°C 保存	使用前甩几下使试剂落入底部, 再加 2.1mL 蒸馏水, 充分震荡溶解备用。
试剂四	液体 12mL×1 瓶	4°C 保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4°C 保存	

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)、可调式移液枪、水浴锅、离心机、研钵、蒸馏水。

四、甘油三酯 (TG) 含量测定:

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、样本制备:

① 组织样本:

称取约 0.1g 组织样本加入研钵中, 加入 1mL 提取液, 在冰上进行匀浆, 12000rpm, 4°C 或室温离心 10min, 取上清液待测。

【注】: 若组织样本为高脂样本或部分为高脂样本, 需用无水乙醇进行提取。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4°C 或室温离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10^6): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 澄清的液体样本直接测定, 若浑浊则离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min, 调节波长到 510 nm, 蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温 (25°C)。

③ 试剂一和二和三可按照 40:340:40 比例配成混合液 (一枪加 420μL 该混合液) (该混合液用多少配多少, 现配现用)。

④ 在 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
标准品		60	
样本	60		
试剂一	40	40	40
试剂二	340	340	400
试剂三	40	40	40
试剂四	220	220	220
混匀，室温 (25℃) 避光孵育 20min，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中，于 510nm 处比色，读取各管 A 值。			

五、结果计算：

1、按样本质量计算：

$$TG(\mu\text{g/g 重量}) = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 500 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D$$

2、按细胞数量计算：

$$TG(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

$$= (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D$$

3、液体中 TG 含量计算：

$$TG(\mu\text{g/mL}) = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V1 \times D$$

$$= 500 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D$$

$$TG(\text{mmol/L}) = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V1 \div Mr \times D$$

$$= 0.782 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D$$

C 标准---标品浓度，0.5mg/mL=500μg/mL；

Mr---甘油三酯分子量，639；

V---提取液体积，1mL；

V1---样本加入体积，0.06mL；

V2---标准品加入体积，0.06mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

500---细胞数量，万；

W---样本取样质量，g。