

Triglyceride Content Assay Kit

甘油三酯 (TG) 含量测定试剂盒说明书

货号: G0910W500 | 方法: 微板法 | 规格: 500 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-氨基氨替吡啶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 100mL×1 瓶	4°C保存	用前用蒸馏水稀释 5 倍, 即可提取 500 个样本。
试剂一	粉剂 mg×3 支	4°C保存	用前甩几下使试剂落入底部, 每支再加 3.7mL 蒸馏水, 充分震荡溶解备用。
试剂二	液体 45mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	粉剂 mg×3 支	-20°C保存	用前甩几下使试剂落入底部, 每支再加 3.7mL 蒸馏水, 充分震荡溶解备用。
试剂四	液体 30mL×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:

酶标仪、96 孔板、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 (10^4): 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 酶标仪预热 30min, 调节波长到 510 nm。

② 所有试剂解冻至室温 (25°C)。

- ③ 试剂一和二和三可按照 20:80:20 比例配成混合液（一枪加 120 μ L 该混合液）（该混合液用多少配多少，现配现用）。
- ④ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μ L)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
标准品		20	
样本	20		
试剂一	20	20	20
试剂二	80	80	100
试剂三	20	20	20
试剂四	60	60	60

混匀，室温（25 $^{\circ}$ C）避光孵育 30min，于 510nm 读取各管 A 值。

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按样本质量计算：

$$TG(\mu\text{g/g 重量}) = (C \text{ 标准} \times V_2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V_1 \div V) \times D$$

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

2、按细胞数量计算：

$$TG(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (C \text{ 标准} \times V_2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (500 \times V_1 \div V) \times D$$

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

3、液体中 TG 含量计算：

$$TG(\mu\text{g/mL}) = (C \text{ 标准} \times V_2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V_1 \times D$$

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

$$TG(\text{mmol/L}) = (C \text{ 标准} \times V_2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V_1 \div Mr \times D$$

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

C 标准---标品浓度，0.5mg/mL=500 μ g/mL； Mr---甘油三酯分子量，639；

V---提取液体积，1mL；

V1---样本加入体积，0.02mL；

V2---标准品加入体积，0.02mL；

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。