

甘油三酯 (triglyceride, TG) 含量测定试剂盒说明书

(货号: ADS-W-ZF024 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃避光保存	禁止冻存
标准品	液体×1 支	4℃保存	标品浓度, 见标签, 禁止冻存

三、实验器材:

研钵 (匀浆机)、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅 (烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、无水乙醇、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

四、甘油三酯 (TG) 含量测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本 (例如不同类型或分组) 进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

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℃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℃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、检测步骤:

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℃)。

③ 在 96 孔板中依次加入:

试剂组分 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
标准品		5	
样本	5		
试剂一	100	100	105

试剂二	100	100	100
混匀，室温（25℃）避光孵育 10min，于 510nm 读取各管 A 值。			

- 【注】1. 若测定管的 A 值大于 0.3，则可将样本进行稀释（用提取液稀释）或减少样本加样量 V1（如减至 10μL，则试剂一相应增加），稀释倍数 D 或样本量 V1 需代入计算公式重新计算。
2. 若样本为血清，蛋黄（需用乙醇提取）等高 TG 样本，可把样本 V1 降为 2.5μL，另用 17.5μL 蒸馏水补齐，再按照上述加样表操作测定，则改变后的 V1 需带入公司计算。
3. 若 A 测定-A 空白的值小于 0.01，则可增加样本加样量 V1（如由 20μL 增至 50μL，则试剂一相应减少），则改变后的 V1 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、按样本质量计算：

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

2、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{TG}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定-A 空白}) \div (\text{A 标准-A 空白}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{Mr} \times \text{D} \\ &= \text{C 标准} \times (\text{A 测定-A 空白}) \div (\text{A 标准-A 空白}) \times 1.278 \times \text{D} \end{aligned}$$

3、液体中 TG 含量计算：

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

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

C 标准---标品浓度，见标签；

V---提取液体积，1mL；

V2---标准品加入体积，0.005mL；

500---细胞数量，万；

Mr---甘油三酯分子量，639

V1---样本加入体积，0.005mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样本取样质量，g。