

## 3-磷酸甘油 (Glycerol-3-phosphate, G3P) 含量测定试剂盒说明书

(货号: ADS-W-T025 微板法 96 样 有效期: 3 个月)

### 一、指标介绍:

3-磷酸甘油(G3P)被甘油磷酸氧化酶(GPO)氧化生成过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 与 4-氨基氨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 处吸光值即可得出甘油含量。

### 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	粉剂 1 支	4℃ 保存	1. 临用前 8000g 4° C 离心 2min 使试剂落入管底 (可手动甩一甩); 2. 加入 1.1mL 蒸馏水, 充分震荡溶解; 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	液体 12mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂三	液体 6mL×1 瓶	4℃ 避光保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4℃ 保存	1. 本标准品即 3-磷酸甘油的浓度为 8mM, 稀释 1 倍后成 4mM 用于标准品待检测液; 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。

### 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、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

### 四、指标测定:

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】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

##### 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℃ 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<sup>4</sup>): 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°C)。  
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		10	
样本	10		
试剂一	10	10	10
试剂二	120	120	130
试剂三	60	60	60
混匀, 室温 (25°C) 避光孵育 60min, 于 510nm 读取各管 A 值 (直到 A 值不变)。			

【注】若测定管的 A 值小于 0.05, 则需增加上样量 V1 (如增至 40μL, 则试剂二相应减小), 样本量 V1 需代入计算公式重新计算。若测定管的 A 值大于 1, 则需将样本进行稀释 (用提取液稀释) 或减少样本加样量 V1 (如减至 5μL, 则试剂二相应增加), 稀释倍数 D 或样本量 V1 需代入计算公式重新计算。

## 五、结果计算:

### 1、按样本质量计算:

$$\begin{aligned} \text{3-磷酸甘油}(\mu\text{mol/g 重量}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 4 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{3-磷酸甘油}(\mu\text{g/g 重量}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 864.16 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

### 2、按细胞数量计算:

$$\begin{aligned} \text{3-磷酸甘油}(\mu\text{mol}/104 \text{ cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 4 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div 500 \times \text{D} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{3-磷酸甘油}(\mu\text{g}/104 \text{ cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 864.16 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div 500 \times \text{D} \end{aligned}$$

### 3、液体中甘油含量计算:

$$\begin{aligned} \text{3-磷酸甘油}(\text{mmol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 4 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{3-磷酸甘油}(\mu\text{g/mL}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 864.16 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D} \end{aligned}$$

### 4、按蛋白浓度计算:

$$\begin{aligned} \text{3-磷酸甘油}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{Cpr} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 4 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{Cpr} \times \text{D} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{3-磷酸甘油}(\mu\text{g}/\text{g prot}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{Cpr} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 864.16 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{Cpr} \times \text{D} \end{aligned}$$

C 标准---4mmol/L=4μmol/mL=864.16μg/mL;      V---提取液体积, 1mL;  
V1---样本加入体积, 0.01mL;                      V2---标准品加入体积, 0.01mL;  
500---细胞数量, 万;                                      D---稀释倍数,未稀释即为 1;  
W---样本取样质量, g。  
Cpr---蛋白浓度 (mg/mL) ; 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。