

## 甘油三酯 (triglyceride, TG) 含量试剂盒说明书

(货号: ADS-F-ZF024 分光法 48 样 有效期: 3 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-氨基氮杂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 60mL×1 瓶 | 4℃保存   |                 |
| 试剂一  | 液体 35mL×1 瓶 | 4℃保存   |                 |
| 试剂二  | 液体 15mL×1 瓶 | 4℃避光保存 | 禁止冻存            |
| 标准品  | 液体×1 支      | 4℃避光保存 | 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)、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、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 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℃)。

③ 在 EP 管中依次加入:

| 试剂组分 (μL) | 测定管 | 标准管<br>(仅做一次) | 空白管<br>(仅做一次) |
|-----------|-----|---------------|---------------|
| 标准品       |     | 30            |               |
| 样本        | 30  |               |               |

|                                                                       |     |     |     |
|-----------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 试剂一                                                                   | 600 | 600 | 630 |
| 试剂二                                                                   | 300 | 300 | 300 |
| 混匀，室温（25℃）避光孵育 10min，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。 |     |     |     |

- 【注】1. 若测定管的 A 值大于 0.5，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 40μL，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 A 测定-A 空白的值小于 0.01，则可增加样本加样量 V1（如由 30μL 增至 120μL，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，0.03mL；

500---细胞数量，万；

Mr---甘油三酯分子量，639；

V1---样本加入体积，0.03mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样本取样质量，g。