

甘油三酯(TG)含量检测试剂盒说明书

Triglyceride Content Assay Kit

可见分光光度法

货号: AK070

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK070-A	100mL×1 瓶(自备)	4℃保存;
AK070-B	7mL×1 支	4℃保存;
AK070-C	30ml×1 瓶	4℃保存;
AK070-D	10mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK070-E	30ml×1 瓶	4℃避光保存;
AK070-F	30ml×1 瓶	4℃避光保存;
AK070-标准品	粉末×1 支	-20℃保存; 临用前加 1mL AK070-A, 即为 1mg/mL 标准甘油三酯溶液, 4℃避光保存。
AK070-A 配制: 自备玻璃空瓶, 正庚烷和异丙醇按体积比 9:16 混合, 盖紧后混匀		

简介:

意义: 甘油三酯 (Triglyceride Content, TG) 是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。

原理: 用异丙醇抽提取 TG, KOH 皂化 TG 后水解生成甘油及脂肪酸, 过碘酸氧化甘油生成甲醛, 在氯离子存在下甲醛与乙酰丙酮缩合生成黄色物质, 在 420 nm 有特征吸收峰, 其颜色的深浅与 TG 含量成正比。

自备用品:

可见分光光度计、1ml 玻璃比色皿、水浴锅、可调式移液枪、双蒸水、正庚烷、异丙醇以及玻璃空瓶。

TG 的提取:

1. 组织中 TG 的提取: 按照组织质量 (g): AK070-A 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL AK070-A) 进行冰浴匀浆, 8000g, 4℃离心 10min, 取上清, 即 TG 待测液。
2. 细胞、细菌中 TG 的提取: 先收集 400-500 万细胞或细菌到离心管内, 弃上清, 加 1mL AK070-A, 超声波破碎 1min (强度 20%, 超声 2s, 停 1s), 8000g, 4℃离心 10min, 取上清, 即 TG 待测液。
3. 血清 (浆) 样品: 直接测定。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 420 nm, 蒸馏水调零。
2. 水浴锅预热到 65℃。
3. 在 EP 管中按照下表操作

试剂名称	空白管(ul)	标准管(ul)	测定管(ul)
蒸馏水	200		
1mg/ml 标准品		200	
TG 待测液			200
AK070-A	625	625	625

加 AK070-A 后充分混匀, 再加 AK070-B			
AK070-B	125	125	125
剧烈振荡 30s, 静置 3-5min 后再剧烈震荡 30s, 如此反复 3 次, 待分层后取上层溶液 150 μ L, 置于新的 EP 管中。			

4. 甘油三酯含量测定:

试剂名称	空白管(ul)	标准管(ul)	测定管(ul)
上层溶液	150	150	150
AK070-C	500	500	500
AK070-D	150	150	150
充分混匀, 65°C水浴 3min, 冷却			
AK070-E	500	500	500
AK070-F	500	500	500
充分混匀, 65°C水浴 15min, 待冷却后, 测定 420nm 处吸光值, 记为 A 空, A 标和 A 测。			

注意: 空白管和标准管只需测定 1-2 次。

计算公式:

1. 血清(浆)中甘油三酯含量计算:

TG 含量 (mg/dL) = C 标准品 \times (A 测-A 空) \div (A 标-A 空) \times 100 = 100 \times (A 测-A 空) \div (A 标-A 空)
 C 标准品: 1mg/mL; 100: 单位换算系数, 1dL=100 mL。

2. 组织中甘油三酯含量计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算

TG 含量 (mg/ mg prot) = C 标准品 \times V \times (A 测-A 空) \div (A 标-A 空) \div (Cpr \times V) = (A 测-A 空) \div (A 标-A 空) \div Cpr

(2) 按样本质量计算

TG 含量 (mg/g) = C 标准品 \times V \times (A 测-A 空) \div (A 标-A 空) \div W = (A 测-A 空) \div (A 标-A 空) \div W
 C 标准品: 1mg/mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g; V: 加入 AK070-A 的体积, 1mL。

3. 细胞、细菌中甘油三酯含量计算:

TG 含量 (mg/10⁴ cell) = C 标准品 \times (A 测-A 空) \div (A 标-A 空) \div 细菌或细胞密度(10⁴ cell/mL) = (A 测-A 空) \div (A 标-A 空) \div 细菌或细胞密度(10⁴ cell/mL)
 C 标准品: 1mg/mL。

注意事项:

1. 试剂盒中有易挥发性物质, 实验过程中需佩戴手套和口罩, 试剂瓶盖打开后应该及时盖紧。
2. 加试剂 AK070-B 后需剧烈震荡, 使待测液中甘油三酯得到充分提取, 振荡幅度、时间、反复次数以及等待分层时间均应保证一致。。
3. 为保证试验的重复性, 每次水浴后的冷却时间要统一。
4. 若测定管 OD 值大于 1 时, 建议将样本用 AK070-A 适当稀释后再进行检测, 并在计算时需乘以相应的稀释倍数。