

甘油三酯(TG)含量检测试剂盒说明书

Trilaurate Content Assay Kit

微量法

货号: AK071

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK071-A	150mL×1 瓶(自备)	4℃保存;
AK071-B	10mL×1 支	4℃保存;
AK071-C	20mL×1 瓶	4℃保存;
AK071-D	5mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK071-E	15mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK071-F	15mL×1 瓶	4℃避光保存;
标准品	粉末×1 支	-20℃保存; 临用前加 1mL AK071-A, 即为 1mg/mL 标准甘油三酯溶液, 4℃避光保存。
AK071-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 (Trilaurate 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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、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): AK071-A 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL AK071-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 AK071-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. 可见分光光度计/酶标仪预热 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	120		
1mg/ml 标准品		120	
TG 待测液			120

AK071-A	375	375	375
加 AK071-A 后充分混匀，再加 AK071-B，			
AK071-B	75	75	75
剧烈振荡 30s，静置 3-5min 后再剧烈振荡 30s，如此反复 3 次，待分层后取上层溶液 30 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	30	30	30
AK071-C	100	100	100
AK071-D	30	30	30
充分混匀，65℃水浴 3min，冷却			
AK071-E	100	100	100
AK071-F	100	100	100
充分混匀，65℃水浴 15min，待冷却后，吸取 200 μ L 至微量玻璃比色皿/96 孔板测定 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一次。

计算公式：

1. 血清（浆）中甘油三酯含量计算：

$TG \text{ 含量 (mg/dL)} = C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测}-A \text{ 空}) \div (A \text{ 标}-A \text{ 空}) \times 100 = 100 \times (A \text{ 测}-A \text{ 空}) \div (A \text{ 标}-A \text{ 空})$
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

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

(2) 按样本质量计算

$TG \text{ 含量 (mg/g)} = C \text{ 标准品} \times V \times (A \text{ 测}-A \text{ 空}) \div (A \text{ 标}-A \text{ 空}) \div W = (A \text{ 测}-A \text{ 空}) \div (A \text{ 标}-A \text{ 空}) \div W$
C 标准品：1mg/mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g/mL；V：加入试剂一的体积，1mL。

3. 细胞、细菌中甘油三酯含量计算：

$TG \text{ 含量 (mg/} 10^4 \text{ cell)} = C \text{ 标准品} \times (A \text{ 测}-A \text{ 空}) \div (A \text{ 标}-A \text{ 空}) \div \text{细菌或细胞}(10^4 \text{ cell/L}) = (A \text{ 测}-A \text{ 空}) \div (A \text{ 标}-A \text{ 空}) \div \text{细菌或细胞}(10^4 \text{ cell/L})$
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 AK071-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 1.0 时，建议将样本用 AK071-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。