

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

甘油三酯 (TG) 含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	自备	4°C保存	取玻璃空瓶，加入 60mL 正庚烷，60mL 异丙醇，盖紧后混匀
试剂二	液体 3mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	液体 3mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂五	液体 10mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂六	液体 10mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 瓶	4°C保存	临用前加 5mL 试剂一，即 1mg/mL 甘油三酯标准溶液

产品说明：

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。测定原理：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。

自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量比色皿/96 孔板、水浴锅、可调式移液枪、双蒸水、125mL 玻璃空瓶。

操作步骤：

一、TG 的提取：

- 1、组织：按照组织质量 (g) : 试剂一体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一) 进行冰浴匀浆，8000g，4°C 离心 10min，取上清待测。
- 2、细胞、细菌：先收集 400-500 万细胞或细菌到离心管内，弃上清，加 1mL 试剂一，超声波破碎 1min (强度 20%，超声 2s，停 1s)，8000g，4°C 离心 10min，取上清待测。
- 3、血清 (浆) 等液体样品：直接测定。

二、测定操作：

- a. 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长到 420 nm，蒸馏水调零。
- b. 水浴锅预热到 65℃。

	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (μL)	40		
标准液 (μL)		40	
TG 待测液 (μL)			40
试剂一 (μL)	125	125	125
试剂二 (μL)	25	25	25

加试剂一后充分混匀，再加试剂二，剧烈振荡 30s，静置，待分层后取上层溶液 15μL，置于新的 EP 管中。

- c. 甘油三酯含量测定：

	空白管	标准管	测定管
上层溶液 (μL)	15	15	15
试剂三 (μL)	50	50	50
试剂四 (μL)	15	15	15
充分混匀，65℃水浴 3min			
试剂五 (μL)	50	50	50
试剂六 (μL)	50	50	50
充分混匀，65℃水浴 15min			

转移至微量比色皿/96 孔板测定 420nm 处吸光度，记为 A 空，A 标和 A 测。注意：空白管和标准管只需测定一次。

三、计算公式：

1. 血清（浆）中甘油三酯含量：

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

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：

- (1)按样本蛋白浓度计算

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

- (2)按样本鲜重计算

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

C 标准品：1mg/mL；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g；V：加入试剂一的体积，1mL。

3. 细胞、细菌中甘油三酯含量:

$$\text{TG 含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} = C \text{ 标准品} \times (\text{A 测} - \text{A 空}) \div (\text{A 标} - \text{A 空}) \div \text{细菌或细胞密度}$$
$$= (\text{A 测} - \text{A 空}) \div (\text{A 标} - \text{A 空}) \div \text{细菌或细胞密度}$$

C 标准品: 1mg/mL; 细菌或细胞密度: 10^4 cell /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. 加试剂二后需剧烈震荡, 使待测液中甘油三酯得到充分提取。
3. 最低检出限为 100μ mol/L。