上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

甘油三酯(TG)含量测定试剂盒（酶法） 分光法

一、产品简介:

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(H2O2)，(H2O2)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TG含量。

二 、试剂盒的组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃保存	
试剂一	粉剂mg×1支	2-8℃保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 2.2mL蒸馏水，充分震荡溶解备用。
试剂二	液体18mL×1瓶	2-8℃保存	
试剂三	粉剂mg×1支	-20℃保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加2.1mL蒸馏水，充分震荡溶解备用。
试剂四	液体12mL×1瓶	2-8℃保存	
标准品	液体1mL×1支	2-8℃保存	

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、可调式移液枪、水浴锅、离心机、 研钵、蒸馏水。

四、甘油三酯(TG)含量测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

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°C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lmL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°C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、上机检测

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°C)。

③试剂一和二和三可按照40:340:40比例配成混合液(一枪加420uL该混合液) (该混合液用多少配多少，现配现用)。

④在EP管中依次加入：

试剂名称(μL)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
标准品		60	
样本	60		
试剂一	40	40	40
试剂二	340	340	400
试剂三	40	40	40
试剂四	220	220	220
混匀，室温(25°C)避光孵育20min,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40uL，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。

2.若样本为血清，蛋黄(需用乙醇提取)等高TG样本，可把样本V1降为10uL，另用50μL蒸馏水补齐，再按照上述加样表操作测定，则改变后的V1需带入公式计算。

3.若样本自身含有高的甘油背景值或者含有高的抗氧化物质(如VC等)，可增设一个样本自身对照(即60uL样本+40μL蒸馏水+ 340uL试剂二+40μL试剂三+220uL试剂四);或若样本自身颜色为红色，也可增设一个样本自身对照(即60μL样本+340μL试剂二+80μL蒸馏水+220uL试剂四);接着均避光反应20min,510nm读取吸光值A, (A测定-A对照)代入公式计算。

4.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60μL增至120uL， 则试剂二相应减少)，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:

TG(μg/g重量)=(C标准×V2) ×(A测定-A空白)÷(A标准-A空白)÷(W×V1÷V)×D

=500×(A测定-A空白)÷(A标准-A空白) ÷W×D

2、按细胞数量计算:

TG(μg/10^4 cell)=(C标准×V2) ×(A测定-A空白)÷(A标准-A空白)÷(500×V1÷V)×D

=(A测定-A空白)÷(A标准-A空白) ×D

3、液体中TG含量计算:

TG(μg/mL)=(C标准×V2)×(A测定-A空白)÷(A标准-A空白)÷V1×D

=500×(A测定-A空白)÷(A标准-A空白)×D

TG(mmol/L)=(C标准×V2)×(A测定-A空白)÷(A标准-A空白)÷V1÷Mr×D

=0.782×(A测定-A空白)÷(A标准-A空白)×D

C标准---标品浓度，0.5mg/mL=500μg/mL;

Mr---甘油三酯分子量，639;

V---提取液体积，1mL;

V1---样本加入体积，0.06mL;

2---标准品加入体积，0.06mL;

D--- 稀释倍数，未稀释即为1;

500---细胞数量，万;

W---样本取样质量，g。

保质期：3个月