# 甘油三酯（TG）含量检测试剂盒（分光光度计法）
# （本试剂盒仅供科研使用）

## 产品包装

| 产品编号 | 产品名称 | 产品规格 |
|---|---|---|
| YFX0171 | 甘油三脂（TG）含量检测试剂盒 | 50 管/48 样 |

## 产品内容

| 名称 | 规格 | 储存条件 |
|---|---|---|
| 提取液 | 液体 50mL ×1 瓶 | 4℃ |
| 试剂一 | 粉剂 ×1 瓶：临用前加入 2mL 纯水充分溶解。配制后的试剂一可 4℃、避光保存 1 周。 | 4℃ |
| 试剂二 | 液体 20mL ×1 瓶 | 4℃ |
| 试剂三 | 粉剂 ×1 瓶：临用前加入 2mL 纯水充分溶解，现用现配。未用完的试剂三可分装后-20℃、避光保存 1 周，禁止反复冻融。 | -20℃，避光 |
| 试剂四 | 液体 15mL ×1 瓶 | 4℃，避光 |
| 标准品 | 液体 1mL ×1 瓶：母液为 10mg/mL 的甘油三酯溶液，无水乙醇稀释，现用现配。 | -20℃，避光 |

## 一、产品说明

甘油三酯（trigLyceride, 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。

用异丙醇抽提取 TG，脂蛋白酶水解 TG 生成甘油及脂肪酸（FFA），甘油与三磷酸腺苷在甘油激酶和磷酸甘油氧化酶的催化下，生成 H2O2，过氧化物酶催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚，生成有色化合物，在 505 nm 有特征吸收峰。

## 二、自备材料

可见分光光度计、电子天平、台式离心机、水浴锅、可调式移液枪、震荡仪、1mL 玻璃比色皿、研钵、纯水、冰和无水乙醇。

## 三、样品准备

1、组织：将样品磨碎，按照质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例(建议称取约 0. 1g，加入 1mL 提取液)，进行冰浴匀浆，8000g 4℃离心 10min，取上清待测。

2、细胞：按照细胞数量($10^4$个)：提取液体积(mL)为 500~1000：1 的比例(建议 500 万细胞，加入 1mL 提取液)，冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3min），8000g，4℃离心 10min，取上清待测。

3、血清或其他液体样本：直接测定。若样本浑浊，室温 8000g 离心 10min 后取上清待测。

## 四、操作步骤

**正式测定前，必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。**

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 5105nm，蒸馏水调零。

2、所有试剂均解冻至室温（25℃）。

3、按照下表操作（试剂一、二、三可按照 40:340:40 的比例配成混合液待用，现配现用）：

| 试剂名称（μL） | 测定管 | 空白管 |
|---|---|---|
| 样品 | 60 | |
| 蒸馏水 | | 60 |
| 试剂一 | 40 | 40 |
| 试剂二 | 340 | 340 |
| 试剂三 | 40 | 40 |
| 试剂四 | 220 | 220 |
| 混匀，室温避光静置 20min，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 510m 波长处读取吸光值，记为 A 测定、A 空白，△A=A 测定-A 空白。 **空白管仅需做 1-2 次。** | | |

## 五、TG 含量的计算

1、标准曲线的建立：

$y = 0.6401x + 0.0296$， $R^2 = 0.9991$； x：标准品浓度（mg/mL） y：吸光值。

2、按照样本蛋白浓度计算：

TG 含量（mg/ mg prot）=（ΔA-0.0296）÷0.6401×V 样÷V 样÷Cpr=1.56×（ΔA-0.0296）÷Cpr。

蛋白浓度需额外测定，建议用本公司生产的 BCA 蛋白定量试剂盒。

3、按照样本鲜重计算：

TG 含量（mg/ g 鲜重）=（ΔA-0.0296）÷0.6401×V 样÷（W×V 样÷V 样总）

=1.56×（ΔA-0.0296）÷W

4、按照液体体积计算：

TG 含量（mg/mL）=（ΔA-0.0296）÷0.6401×V 样÷V 样=1.56×（ΔA-0.0296）。

5、按照细胞或细菌密度计算：

TG 含量（mg/$10^4$ceLL）=（ΔA-0.0296）÷0.6401×V 样总÷500 =0.003×（ΔA-0.0296）。

V 样：加入样本体积，0.06mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL； 500:细菌或细胞总数，500 万。

## 六、注意事项

1、ΔA 线性范围为 0.08-2.5，可测定甘油三酯浓度范围为 0.04-4mg/mL； 如果样本ΔA 大于 2.5，建议用提取液稀释待测样本后重新测定（计算公式中乘以相应稀释倍数），如果样本ΔA 小于 0.08，建议适当增加样本量。

2、试剂四为显色剂，正常为无色液体，如果出现变色，请立即停止使用。