

甘油三酯 (triglyceride, TG) 含量测定试剂盒说明书

微量法 100T/96S

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。

测定意义：

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：

用异丙醇提取TG，脂蛋白酯酶水解TG生成甘油和脂肪酸（FFA），甘油与三磷酸腺苷在甘油激酶和磷酸甘油氧化酶催化下生成H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，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处有特征吸收峰。

自备仪器和用品：

酶标仪、台式离心机、可调式移液枪、96孔板、研钵、冰和蒸馏水

试剂组成和配置：

试剂一：液体120 mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体12 mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：液体12 mL×1瓶，4℃避光保存。

TG的提取：

1. 组织中TG的提取：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℃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，离心后弃上清，加1mL试剂一，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。

测定操作：

酶标仪预热30min，调节波长到505 nm。

试剂（μL）	空白管	测定管
样本		10
试剂一	10	
试剂二	95	95
试剂三	95	95

混匀，室温下静置20min，于505 nm波长处读取吸光值，记为A空白和A测定， $\Delta A = A_{测定} - A_{空白}$ 。空白管只需测一管。

计算公式：

标准曲线:  $y = 0.3261x - 0.0199$ ;  $R^2 = 0.9979$ ; x: 标准品浓度 (mg/mL) y: 吸光值差值 $\Delta A$ 。

1. 血清 (浆) 中甘油三酯含量计算:

$$\text{TG含量 (mg/mL)} = (\Delta A + 0.0199) \div 0.3261 = 3.07 \times (\Delta A + 0.0199)$$

2. 组织、细菌或细胞中甘油三酯含量计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{TG含量 (mg/mg prot)} = (\Delta A + 0.0199) \div 0.3261 \times V_{\text{样}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) = 3.07 \times (\Delta A + 0.0199) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

$$\text{TG含量 (mg/g 鲜重)} = (\Delta A + 0.0199) \div 0.3261 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 3.07 \times (\Delta A + 0.0199) \div W$$

$V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.01 mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入试剂一体积, 1 mL; W: 样本质量, g;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/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. 最低检出限为100 $\mu\text{g/mL}$ 。