

肝脏、脂肪样本甘油三酯（TG）含量酶法测定试剂盒

产品货号：BA2473

产品规格：105次

产品简介：

甘油三酯是由甘油和脂肪酸酯化而成，是血脂的主要成分，也是机体重要的供能物质。高甘油三酯和高胆固醇血症是临床常见的高脂血症，与许多疾病相关。与血浆甘油三酯测定相比，实体组织和细胞的甘油三酯测定并非易事。本试剂盒避免了有毒的氯仿甲醇提取、繁杂的氮气吹干和脂质复溶等步骤，采用高效能试剂进行组织细胞裂解和甘油三酯抽提，而且优化了GPO Trinder酶学反应组分和操作步骤。简单易行、灵敏度高检测范围为20-2000 μ mol/L。可用于测量动植物组织细胞、样品中的甘油三酯含量。

原理：（1）脂肪酶分解血清中的甘油三酯为甘油；（2）甘油激酶将甘油磷酸化为3-磷酸甘油；（3）3-磷酸甘油被甘油磷酸氧化酶氧化产生过氧化氢；在过氧化物酶作用下生色底物转化为苯醌亚胺，其光密度值与甘油浓度成正比。

适用范围：适用于动物实体组织、培养细胞样品中甘油三酯含量的测定。

产品组成：

产品名称	105次	保存条件
试剂A：裂解液	100ml	2-8 $^{\circ}$ C
试剂B：R1试剂	16ml	2-8 $^{\circ}$ C
试剂C：R2试剂	4ml	2-8 $^{\circ}$ C
试剂D：4 mmol/L甘油标准品	1ml	2-8 $^{\circ}$ C

所需设备：

酶标仪、生化分析仪或721、722型可见光分光光度计。最佳工作波长550nm，如无此波长建议优先选用570nm、次选530、490nm。

操作步骤：

一、组织细胞裂解：（在裂解前，组织或者细胞用PBS洗涤两次以去除甘油）

- 原代脂肪细胞：**200g，5分钟离心收集细胞。建议每100 μ l压积（Packed Cell Volume）脂肪细胞加入1ml裂解液，震荡裂解，而后室温静置10分钟。
- 分化脂肪细胞或非脂肪细胞：**可先用胰酶消化、离心收集细胞而后进行裂解，也可直接在培养皿内进行裂解。通常情况下，（6孔板单孔约为 2×10^6 个细胞，75cm²瓶约为 1×10^6 个细胞）可按比例每 1×10^6 个细胞加入0.1ml裂解液，混匀后室温静置10分钟。
- 动物组织：**离心管精确称重，加入组织块后再称重，二者相减（即减量称重法）计算组织重量（约50mg）。强烈建议按比例每1mg组织加20 μ l裂解液以减少样品间蛋白和脂质含量变异而产生的误差。强烈建议裂解液用量在1ml左右，保证有效的匀浆裂解与脂质提取。用电动高速匀浆器或手动玻璃匀浆器破碎组织。（不推荐超声方法，因其不能完全和均匀破碎。应根据预实验调整初始的组织细胞加入量），匀浆后静置10分钟。

二、裂解液处理：

- 取适量上清液转移到1.5ml离心管中，进行步骤2的操作。余下的裂解液可用BCA法蛋白定量试剂盒进行蛋白定量或-20 $^{\circ}$ C储存。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- 70°C加热10分钟，组织量多时可能出现絮状沉淀。
- 室温2000rpm离心5分钟，上层清液即可用于酶学测定。

三、工作溶液配制：

按4:1比例，取4ml试剂R1与1ml试剂R2混合即可，立即使用或4°C保存<1天，变色弃去。

四、标准品稀释：

用蒸馏水、生理盐水或与样品缓冲液一致的液体，将4mM甘油标准品倍比稀释为1000、500、250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125 μ mol/L，通常取其中4~6管即可，注意设置0浓度对照反应管。

五、甘油三酯浓度测定：

- 参见下表进行加样。以96孔板为例，待测样品体积可在5、10、20 μ l之间，推荐以10 μ l为起始加样量。如果样品测量值超出线性范围，可进行适当稀释，最后根据稀释倍数计算浓度。

加样比例（检测范围20-2000 μ mol/L）

（可对样品和工作液比例进行微量调整）

	96 孔微板测定			1 ml比色杯测定		
	空白管	标准管	样品	空白管	标准管	样品
蒸馏水 μ l	10			35		
标准品 μ l		10			35	
样品 μ l			10			35
工作液 μ l	195	195	195	665	665	665

- 37°C或25°C反应15分钟。反应平衡后颜色在60分钟内稳定。
- 先用蒸馏水+工作液的空白管调零，然后测定各管OD值。
- 绘制标准曲线并计算甘油三酯浓度。

附Excel作图步骤：各标准管OD值为y轴，标准品浓度为x轴。(1)鼠标左键圈住数据，点击做图向导，选择-散点图-，点击-完成-。(2)鼠标右键点图上的某一点，点击-添加趋势线-，点击-选项-，点击-显示公式-和-R2值-。

- 以每mg蛋白浓度或细胞数校正甘油三酯含量。

说明：

- 维生素C>0.18g/L、血红蛋白>2g/L、胆红素>0.25g/L、强还原剂二硫苏糖醇、巯基乙醇等会干扰测定。高浓度EDTA会干扰测定。
- 样本即使保存在-20°C的环境下，甘油三酯也会自发水解。因此建议样品4°C保存时间应短于24小时，当-70°C保存时，也应不超过1个月。
- 如果室温较低，应延长反应时间或在37°C进行反应。
- 不同类型组织和细胞内甘油三酯含量差别很大，应根据预实验调整初始的裂解液的加入量。对于脂肪组织而言，一般来说裂解液用量在10-20mg/ml即可。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com