

甘油三酯（triglyceride, TG）含量测定试剂盒说明书

分光光度 50T/48S

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_2O_2 ，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：

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液枪、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水

试剂组成和配置：

试剂一：液体 60 mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：液体 26 mL×1 瓶，4℃保存。

试剂三：液体 26 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：

可见分光光度计预热 30min，调节波长到 505 nm。

| 试剂（ μ L） | 空白管 | 测定管 |
|--------------|-----|-----|
| 样本 | | 50 |
| 试剂一 | 50 | |
| 试剂二 | 475 | 475 |
| 试剂三 | 475 | 475 |

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 : $y = 0.6522x - 0.0199$; $R^2 = 0.9979$; x : 标准品浓度 (mg/mL) y : 吸光值差值 ΔA 。

1. 血清(浆)中甘油三酯含量计算:

$$\text{TG 含量 (mg/mL)} = (\Delta A + 0.0199) \div 0.6522 = 1.533 \times (\Delta A + 0.0199)$$

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

$$\text{TG 含量 (mg/mg prot)} = (\Delta A + 0.0199) \div 0.6522 \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) = 1.533 \times (\Delta A + 0.0199) \div C_{\text{pr}}$$

(2)按样本质量计算

$$\text{TG 含量 (mg/g 鲜重)} = (\Delta A + 0.0199) \div 0.6522 \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 1.533 \times (\Delta A + 0.0199) \div W$$

$V_{\text{样}}$: 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;

C_{pr} : 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 $\mu\text{g/mL}$ 。