

## 甘油三酯（TG）含量检测试剂盒说明书

微量法

**注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。**

货号：BC0625

规格：100T/96S

**产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。**

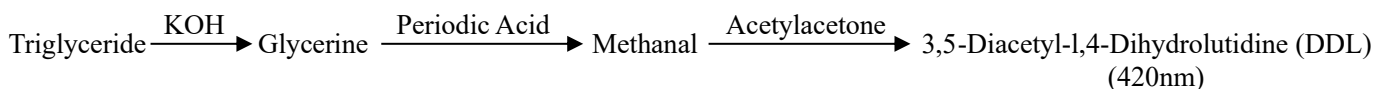
试剂名称	规格	保存条件
试剂一	自备试剂	-
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	液体 5 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂五	液体 15 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂六	液体 15 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 瓶	2-8°C保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：自备玻璃空瓶，正庚烷和异丙醇按体积比 1:1 混合，盖紧后混匀，大约需要 150mL，现用现配，2-8°C保存；
- 2、标准品：临用前加 5 mL 试剂一，即 1 mg/mL 甘油三酯标准溶液，-20°C分装保存两周,避免反复冻融。

### 产品说明：

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：用异丙醇抽提取 TG，KOH 皂化 TG 后水解生成甘油及脂肪酸，过碘酸氧化甘油生成甲醛，在氯离子存在下甲醛与乙酰丙酮缩合生成黄色物质，在 420nm 有特征吸收峰，其颜色的深浅与 TG 含量成正比。



### 技术指标：

最低检出限：0.0372 mg/mL

线性范围：0.0625-3 mg/mL

**注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、涡旋振荡仪、水浴锅、可调式移液枪、正庚烷、异丙醇、蒸馏水、玻璃空瓶。

### 操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 1、组织：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，取上清待测。
- 2、细胞、细菌：先收集500-1000万细胞或细菌到离心管内，离心弃上清，加1mL试剂一，超声波破碎1min（功率200W，超声2s，停1s），8000g，4℃离心10min，取上清待测。
- 3、血清（浆）等液体样本：直接测定。

## 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min，调节波长到420nm，蒸馏水调零。
2. 水浴锅预热到65℃。

	空白管	标准管	测定管
标准液（μL）	-	120	-
TG待测液（μL）	-	-	120
试剂一（μL）	495	375	375
试剂二（μL）	75	75	75

加试剂一后充分混匀，再加试剂二，剧烈振荡30s，静置3-5min后再剧烈振荡30s，如此反复3次，常温静置一定时间分层后取上层溶液30μL，置于新的EP管中。

### 3. 甘油三酯含量测定：

	空白管	标准管	测定管
上层溶液（μL）	30	30	30
试剂三（μL）	100	100	100
试剂四（μL）	30	30	30
充分混匀，65℃水浴3min，冷却			
试剂五（μL）	100	100	100
试剂六（μL）	100	100	100
充分混匀，65℃水浴15min，冷却			

冷却后吸取200μL至微量玻璃比色皿/96孔板测定420nm处吸光度，记为A空，A标和A测。（空白管和标准管只需检测1-2次）

## 三、TG计算公式

### 1. 血清（浆）中甘油三酯含量：

$$\text{TG含量 (mg/dL)} = C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测}} - A_{\text{空}}) \div (A_{\text{标}} - A_{\text{空}}) \times 100 = 100 \times (A_{\text{测}} - A_{\text{空}}) \div (A_{\text{标}} - A_{\text{空}})$$

### 2. 组织或细胞、细菌中甘油三酯含量：

#### (1) 按样本蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{TG含量 (mg/mg prot)} &= C_{\text{标准品}} \times V \times (A_{\text{测}} - A_{\text{空}}) \div (A_{\text{标}} - A_{\text{空}}) \div (C_{\text{pr}} \times V) \\ &= (A_{\text{测}} - A_{\text{空}}) \div (A_{\text{标}} - A_{\text{空}}) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

#### (2) 按样本质量计算

$$\text{TG含量 (mg/g质量)} = C_{\text{标准品}} \times V \times (A_{\text{测}} - A_{\text{空}}) \div (A_{\text{标}} - A_{\text{空}}) \div W = (A_{\text{测}} - A_{\text{空}}) \div (A_{\text{标}} - A_{\text{空}}) \div W$$

#### (3) 按细胞/细菌数量计算：

$$\text{TG 含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} = \text{C 标准品} \times (\text{A 测} - \text{A 空}) \div (\text{A 标} - \text{A 空}) \div \text{N}$$
$$= (\text{A 测} - \text{A 空}) \div (\text{A 标} - \text{A 空}) \div \text{N}$$

C 标准品: 1mg/mL; 100: 单位换算系数, 1dL=100mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; V: 加入试剂一的体积, 1mL; N: 细菌或细胞数量, 以万计。

#### 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. 加试剂二后需反复剧烈振荡, 使待测液中甘油三酯得到充分提取, 振荡幅度、时间、反复次数以及等待分层时间均应保证一致。
3. 为保证试验的重复性, 每次水浴后的冷却时间要统一。
4. 若测定管 OD 值大于 1.5 时, 建议将样本用试剂一适当稀释后再进行检测, 并在计算时需乘以相应的稀释倍数。

#### 相关发表文献:

[1] Wei Hu,Rui Wei,Liyue Wang,et al. Correlations of MMP-1, MMP-3,and MMP-12 with the degree of atherosclerosis, plaque stability and cardiovascular and cerebrovascular events. Experimental and Therapeutic Medicine. 2018;(IF1.448)

[2] Jieyong Xing,Yanshao Liu,Tao Chen. Correlations of chemokine CXCL16 and TNF- $\alpha$  with coronary atherosclerotic heart disease. Experimental and Therapeutic Medicine. November 2017;

[3] Zhenbin Xu,Xizhuang Bai. Strontium ranelate-induced anti-adipocytic effects are involved in negative regulation of autophagy in rat bone marrow mesenchymal stem cells. International Orthopaedics. October 2018;

[4] Chu X Y, Yang S Z, Zhu M Q, et al. Isorhapontigenin Improves Diabetes in Mice via Regulating the Activity and Stability of PPAR $\gamma$  in Adipocytes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(13): 3976-3985.

[5] Li W, Li Y, Zhao Y, et al. The protective effects of aloperine against ox-LDL-induced endothelial dysfunction and inflammation in HUVECs[J]. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 2020, 48(1): 107-115.

#### 参考文献:

[1] Fletcher M J. A colorimetric method for estimating serum triglycerides[J]. Clinica Chimica Acta, 1968, 22(3): 393-397.

[2] Hercules D M, Sheehan T L. Chemiluminescent determination of serum glycerol and triglycerides[J]. Analytical chemistry, 1978, 50(1): 22-25.

#### 相关系列产品:

BC1890/BC1895 游离胆固醇 (FC) 含量检测试剂盒

BC0750/BC0755 乙醛脱氢酶 (ALDH) 活性检测试剂盒

BC0410/BC0415 乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 活性检测试剂盒

BC1980/BC1985 胆固醇 (TC) 含量检测试剂盒