

# 甘油含量测试盒

(货号: BC076 适用于组织样本)

一、产品用途: 测定实体组织、细胞中的甘油浓度。

二、试剂组成及配制: (100~500T)

试剂组成	规格	保存条件
裂解液	100 ml×1 瓶	本试剂盒 4℃避光 保存, 有效期 3 个月
R1	16 ml×1 瓶	
R2	10 ml×1 瓶	
4mM 甘油标准品	4 ml×1 瓶	
工作溶液的配制: 按 R1:R2= 4:1 比例, 即取 4ml 试剂 R1 与 1ml 试剂 R2 混合, 现用现配, 用多少配多少		
[注]: 谨防来源不明但容易发生的甘油污染, 可来自操作者本人或标准品液体微粒溅射等。工作液变色弃去。		
可供 100 次微板测定或 30 次 1 ml 比色杯测定。		

三、所需设备:

酶标仪、(721、722 型) 可见分光光度计、生化分析仪。

最佳工作波长 550nm, 如无此波长建议优先选用 570、530、490nm。比色杯光径 1cm。

四、操作过程:

1、样本处理

➤ 组织细胞裂解:

①、细胞 (包括分化的脂肪细胞) 裂解:

消化、离心收集细胞。或直接在培养皿内裂解。通常 6 孔板单孔约  $2 \times 10^6$  个细胞, 75mm<sup>2</sup> 瓶约  $1 \times 10^7$  细胞。按比例每  $1 \sim 2 \times 10^6$  细胞加 0.1ml 裂解液, 混匀裂解。

②、动物组织裂解:

切记预先将新鲜组织称重后保存。组织冻存后再解冻称重会导致明显的测量误差。离心管精确称重, 加入新鲜组织后再称重, 二者相减 (即减量称重法) 计算组织重量 (约 50mg)。按比例每 1mg 组织加 10 $\mu$ l 裂解液。用 0.5~1ml 裂解液可保证有效的裂解。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。应根据预试验调整组织细胞加入量。

➤ 裂解液处理:

①、取 100~500 $\mu$ l 裂解液转移到 1.5ml 离心管, 进行下一步操作。余下的裂解液可用 BCA

法蛋白定量试剂盒 (A045-3) 进行蛋白定量或 -20℃ 储存。

②、70℃ 10 分钟灭活脂肪酶, 可能出现絮状沉淀。

③、室温 5000rpm 离心 5 分钟, 上层清液即可用于酶学测定。

2、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 4 mM 甘油标准品倍比稀释为 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125  $\mu$ mol/L, 通常 4~6 管即

可，注意设置 0 浓度对照反应管。

### 3、甘油测定：

- ①、参见下表加样。待测样品体积 10 $\mu$ l，多加可抑制反应。
- ②、37 $^{\circ}$ C 或 25 $^{\circ}$ C 10 分钟。反应平衡后颜色在 60 分钟内稳定。
- ③、先用蒸馏水空白管调零，然后测定各管 OD 值。
- ④、绘制标准曲线并计算甘油浓度。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-R<sup>2</sup>值-。
- ⑤、以每 mg 蛋白浓度或细胞数校正甘油三酯含量。

加样表

	96 孔微板测定			1ml 比色杯测定		
	空白管	标准管	测定管	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	10 $\mu$ l			35 $\mu$ l		
标准品		10 $\mu$ l			35 $\mu$ l	
样品			10 $\mu$ l			35 $\mu$ l
工作溶液	190 $\mu$ l	190 $\mu$ l	190 $\mu$ l	665 $\mu$ l	665 $\mu$ l	665 $\mu$ l

### 五、产品描述：

甘油是甘油三酯的水解产物。与游离脂肪酸一样，甘油含量是甘油三酯水解反应的可靠检测指标，但检测更加方便。试剂盒采用优化步骤，检测实体组织、细胞中甘油含量。

### 六、测定原理：

在 ATP 存在下甘油被甘油激酶磷酸化为 3-磷酸甘油，再被甘油磷酸氧化酶氧化产生过氧化氢；在过氧化氢酶作用下生色底物转化为苯醌亚胺，光密度值与甘油浓度成正比。

### 七、注意事项：

- 1、试剂混浊或空白管 OD 550nm 大于 0.2 时弃去。
- 2、维生素 C > 0.18g/L、血红蛋白 > 2g/L、胆红素 > 0.25g/L、二硫苏糖醇、巯基乙醇、高浓度 EDTA 干扰测试。
- 3、红细胞糖酵解时合成磷酸甘油影响测定。

### 八、参考文献：

- 1、Trinder, P. (1969). Ann. Clin. Biochem. 6:24 - 27.
- 2、Barham D and Trinder P. (1972). Analyst 97:142 - 145.



ELK Biotechnology

Tel: +86-027-59760950 Website: [www.elkbiotech.cn](http://www.elkbiotech.cn)

地址：武汉市东湖新技术开发区高科园二路盛齐安生物产业园 4 号楼