

# 甘油/丙三醇检测试剂盒（酶法/微量法）

货号：PMK1942BKM

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/48S 96T/96S

检测范围：62.5-4,000nmol/mL 灵敏度：31.25nmol/mL

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）或其他液体

## 产品简介

甘油（Glycerine），又名丙三醇，是动植物组织以及血液中甘油三酯代谢的中间产物。甘油三酯经过水解产生甘油，甘油再进一步氧化为细胞代谢提供能量。它可作为衡量肝脏疾病的有效标志物，此外还广泛用作食品工业中的甜味剂和药物配方中的保湿剂。本试剂盒提供了一种简单的检测方法，用于检测生物样本中甘油含量。其原理是甘油在ATP存在下被甘油激酶（GK）磷酸化为3-磷酸甘油，再被甘油磷酸氧化酶（GPO）氧化产生过氧化氢；最后利用过氧化物酶催化过氧化氢氧化4-氨基安替比林和酚，生成红色醌类化合物；在505nm有特征吸收峰，通过测定该波长吸光度即可计算甘油的含量。

## 产品内容

| 试剂盒组分 | 规格    |       | 储存条件     |
|-------|-------|-------|----------|
|       | 48T   | 96T   |          |
| 试剂一   | 粉剂×1瓶 | 粉剂×2瓶 | 4℃避光保存   |
| 试剂二   | 粉剂×1瓶 | 粉剂×2瓶 | -20℃避光保存 |
| 试剂三   | 5mL   | 10mL  | 4℃保存     |
| 标准品   | 1mL   | 1mL   | 4℃避光保存   |

## 自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测505nm处的吸光度）

恒温箱、制冰机、低温离心机

96孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水、异丙醇

匀浆器（如果是组织样本）

## 试剂准备

试剂一：临用前每瓶加入8mL去离子水充分溶解。用不完的试剂4℃避光保存1周或分装-20℃避光保存1个月，避免反复冻融。

试剂二：临用每瓶加入3mL试剂三充分混匀待用。用不完的试剂可4℃保存一周或分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

工作液的配制：每孔配制180μL工作液：吸取50μL溶解后的试剂二，130μL试剂一。工作液需现配现用，根据需要测定的样本数按比例配制。

标准品：含4mM（4μmol/mL）甘油；4℃避光保存。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将4μmol/mL（4,000nmol/mL）甘油标准品稀释为4000, 2,000, 1,000, 500, 250, 125, 62.5nmol/mL的标准溶液。

## 产品说明书

|        | 标准品体积              | 去离子水体积 (μL) | 标准品浓度 (nmol/mL) |
|--------|--------------------|-------------|-----------------|
| Std. 1 | 100μL 4,000nmol/mL | 0           | 4000            |
| Std. 2 | 50μL of Std. 1     | 50          | 2000            |
| Std. 3 | 50μL of Std. 2     | 50          | 1000            |
| Std. 4 | 50μL of Std. 3     | 50          | 500             |
| Std. 5 | 50μL of Std. 4     | 50          | 250             |
| Std. 6 | 50μL of Std. 5     | 50          | 125             |
| Std. 7 | 50μL of Std. 6     | 50          | 62.5            |

**注意：每次实验都需要新配制标准品。**

### 样本制备

组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 异丙醇，冰浴匀浆，12,000 g 4℃离心 10min，取上清液置于冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 异丙醇，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），12,000 g 4℃离心 10min，取上清液置于冰上待测。

血清（浆）等液体样本：按吸取 500μL 液体样本加入 500μL 异丙醇的比例混匀，12,000 g 4℃离心 10min，取上清液置于冰上待测。

**注意：推荐使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存 6 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。因异丙醇会导致蛋白变性，样本需另行用合适的缓冲液按照相同的比例进行提取。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 505nm，可见分光光度计去离子水调零；恒温箱预热到 37℃。工作液在 37℃中预热 30min 以上。
2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

|         | 测定 (μL) | 标准 (μL) | 空白 (μL) |
|---------|---------|---------|---------|
| 样本      | 20      | 0       | 0       |
| 不同浓度标准品 | 0       | 20      | 0       |
| 去离子水    | 0       | 0       | 20      |
| 工作液     | 180     | 180     | 180     |

混匀，37℃静置 60min，测定 505nm 处吸光值 A。空白孔记为 A<sub>空</sub>，标准孔记为 A<sub>标</sub>，测定孔记为 A<sub>测</sub>。计算  $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{空}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$ （空白和标准曲线只需做 1 次）。

**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  $\Delta A_{测}$  小于 0.005 可适当加大样本量。如果  $\Delta A_{测}$  大于 1.0，样本可用异丙醇进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。如果样本提取以后有很深的颜色或反应以后有明显浑浊，可以用 20 μL 样本加入 180 μL 去离子水作为样本对照，计算  $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{对}$ 。**

### 结果计算

#### 1. 标准曲线的绘制

以标准液浓度为 y 轴， $\Delta A_{标}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将  $\Delta A_{测}$  带入方程得到 y 值 (nmol/mL)。

#### 2. 样本含量计算

- (1) 按样本质量计算

## 产品说明书

甘油含量 (nmol/g 质量) =  $y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$

(2) 按细菌或细胞数量计算

甘油含量 (nmol/ $10^4$  cells) =  $y \times V_{\text{样}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$

(3) 按液体体积计算

甘油含量 (nmol/mL) =  $y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = 2y \times n$

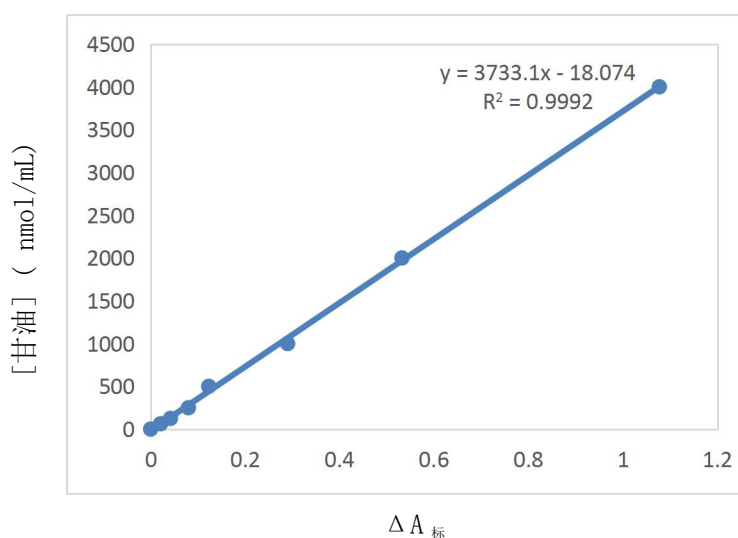
(4) 按样本蛋白浓度计算:

甘油含量 nmol/mg prot) =  $y \times V_{\text{样}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \times n = y \div \text{Cpr} \times n$

$V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.02mL;  $W$ : 样本质量, g;  $V_{\text{样总}}$ : 样本总体积, 1mL;  $n$ : 样本进一步稀释的稀释倍数;  
2: 液体样本前处理过程中的稀释倍数;  $\text{Cpr}$ : 样本蛋白浓度, mg/mL; 500: 细胞数量, 500 万。

### 结果展示

典型标准曲线-数据和曲线仅供参考, 实验者需根据自己的实验建立标准曲线



### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品:

- PMK1142 甘油三酯 (TG) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1144 游离胆固醇 (FC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1143 总胆固醇 (TC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1137 游离脂肪酸 (FFA) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1151 血清高密度脂蛋白 (HDL-C) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1152 血清低密度脂蛋白 (LDL-C) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

