

Glycerol Content Assay Kit

甘油(Glycerol)含量测定试剂盒(酶法) 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1846B	甘油(Glycerol)含量测定试剂盒(酶法) 微板法	96T

产品简介:

甘油储存于脂肪细胞中是甘油三酯代谢的最终产物之一。在生产、生活中甘油可用作溶剂, 润滑剂, 药剂和甜味剂。

甘油被甘油激酶(GK)的催化生成甘油-1-磷酸(G-1-P)。G-1-P 被甘油磷酸氧化酶(GPO)氧化生成过氧化氢(H₂O₂), (H₂O₂)与 4-氨基氨替吡啶等反应生成红色醌类化合物, 其在 510nm 处有特征吸收峰, 通过检测 510nm 处吸光值即可得出甘油含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末×1 支	-20°C保存	使用前甩几下使试剂落入底部, 再加 4.2mL 蒸馏水, 充分震荡混匀溶解。
试剂二	9mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	6mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	液体×1 支	4°C保存	使用前用水稀释 10 倍即成 4mM 甘油标准品待检测液。

使用方法:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

一、样本准备

1. 组织样本:

- (a) 称取约 0.1g 组织样本加入研钵中, 加入 1mL 提取液, 在冰上进行匀浆;
- (b) 12000rpm, 4°C或室温离心 10min, 取上清液待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本:

- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- (b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- (c) 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本:

直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min, 调节波长到 510 nm。
2. 所有试剂解冻至室温 (25°C)。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



3. 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
标准品	-	10	-
蒸馏水	-	-	10
样本	10	-	-
试剂一	40	40	40
试剂二	90	90	90
试剂三	60	60	60
混匀, 室温 (25°C) 避光孵育 30min, 于 510nm 读取各管 A 值 (直到 A 值不变)。			

【注】1.若测定管的 A 值小于 0.05, 则需增加上样量 V1 (如增至 40μL, 则试剂二相应减小), 样本量 V1 需代入计算公式重新计算。若测定管的 A 值大于 1, 则需将样本进行稀释 (用提取液稀释) 或减少样本加样量 V1 (如减至 5μL, 则试剂二相应增加), 稀释倍数 D 或样本量 V1 需代入计算公式重新计算。
2.若样本自身含有高的背景值或者含有高的抗氧化物质 (如 VC 等), 需要增设一个样本自身对照 (即 10μL+130μL 试剂二+60μL 试剂三, 避光反应 30min, 510nm 读取吸光值 A), 测定管减去对照管, 代入计算公式计算。

三、结果计算

1. 按样本质量计算

$$\text{甘油 } (\mu\text{mol/g 重量}) = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 4 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D$$

$$\text{甘油 } (\mu\text{g/g 重量}) = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 368.36 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D$$

2. 按细胞数量计算:

$$\text{甘油 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

$$= 4 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div 500 \times D$$

$$\text{甘油 } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

$$= 368.36 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div 500 \times D$$

3. 液体中甘油含量计算:

$$\text{甘油 } (\text{mmol/L}) = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V1 \times D$$

$$= 4 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D$$

$$\text{甘油 } (\mu\text{g/mL}) = (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V1 \times D$$

$$= 368.36 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D$$

C 标准---4mmol/L=4μmol/mL=368.36μg/mL

V---提取液体积, 1mL

V1---样本加入体积, 0.01mL

V2---标准品加入体积, 0.01mL

500---细胞数量, 万

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

W---样本取样质量, g

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

