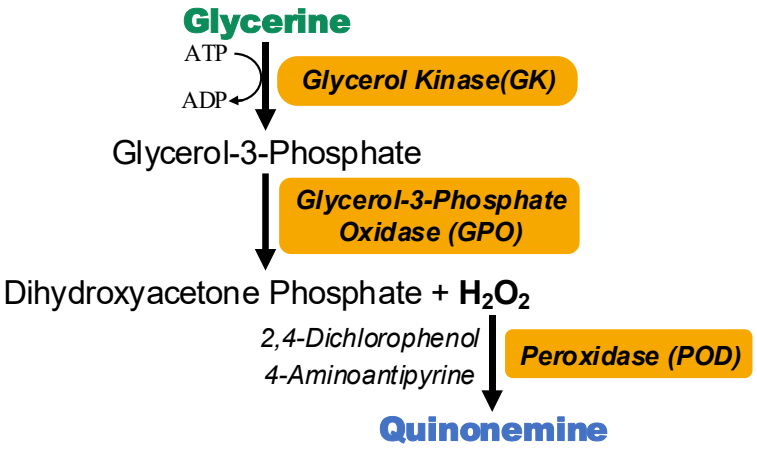
甘油含量检测试剂盒

Glycerine Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

甘油含量检测试剂盒

Glycerine Content Assay Kit

一、产品描述

甘油，化学名称为丙三醇，是一种简单的多元醇化合物。作为生命体脂质代谢的核心骨架，其主链结构广泛存在于甘油三酯、磷脂等各类甘油酯分子中。甘油作为肝脏脂质代谢的有效生物标志物，对评估肝脏疾病至关重要，同时在食品工业和药物制剂领域被广泛应用。

甘油在甘油激酶（GK）的作用下生成甘油磷酸，甘油磷酸氧化酶（GPO）将甘油磷酸氧化产生过氧化氢，过氧化物酶（Peroxidase，POD）催化 H_2O_2 氧化 4-氨基安替比林偶联酚，生成红色醌类化合物，产物在 505 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测甘油的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 支	-20°C保存	**使用前加入 1.48 mL 蒸馏水充分溶解** （分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融）
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C保存	**使用前加入 4 mL 蒸馏水充分溶解** （分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融）
试剂四	液体 1 mL×1 支	4°C保存	-
试剂五	液体 3 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存	**1 mmol/mL 甘油标准液**
标准稀释液的制备（现用现配）：使用前将 1 mmol/mL 甘油标准液使用蒸馏水稀释至 1.2、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05 μmol/mL 即为标准稀释液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，12000 g 常温离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，12000 g 常温离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③液体样本：吸取 500 μL 液体样本加入 500 μL 提取液，沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，12000 g 常温离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 505 nm。

②试验前将**试剂一**置于 37℃预热 10 min 以上。

③**检测工作液的制备（现配现用）：**使用前根据使用量按照试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=4:8:3:9 的体积比配制，置于冰上放置，配制后 2 h 内有效。

④**标准稀释液的制备（现用现配）：**使用前将 1 mmol/mL 甘油标准液使用蒸馏水稀释至 1.2、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05 μmol/mL 即为标准稀释液。

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	10	10	10	0.4	0.2	0.1
标准液体积（μL）	120	60	40	200	200	200
蒸馏水体积（μL）	840	940	960	200	200	200
稀释后浓度（μmol/mL）	1.2	0.6	0.4	0.2	0.1	0.05

⑤在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组（μL）	标准组（μL）	空白组（μL）
待测样本	20	-	-
标准稀释液	-	20	-
蒸馏水	-	-	20
试剂一	120	120	120
检测工作液	60	60	60
充分混匀，37℃反应 15 min			

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

吸光值测定（10 min 内完成测定）：测定 505 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算ΔA 测定=A 测定-A 空白，ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：各浓度标准组和空白组只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 1.2、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05 μmol/mL 为横坐标（x），以其对应的ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 y=kx+b，将ΔA 测定带入公式中得到 x（μmol/mL）。

3.甘油含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$甘油含量（\mu mol/mg\ prot）= \frac{x \times D}{Cpr}$$

②按组织样本质量计算

$$甘油含量（\mu mol/g）= \frac{x \times V_{提1} \times D}{W} = \frac{x \times D}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$甘油含量（\mu mol/10^4\ cell）= \frac{x \times V_{提1} \times D}{细菌或细胞数量} = \frac{x \times D}{细菌或细胞数量}$$

④液体样本体积计算

$$甘油含量（\mu mol/mL）= \frac{x \times（V_{样}+V_{提2}）\times D}{V_{样}} = 2 \times x \times D$$

注释：V 提 1：组织、细菌或细胞样本提取过程中加入提取液的体积，1 mL；V 提 2：液体样本提取过程中加入提取液的体积，0.5 mL；V 样：提取过程中加入液体样本的体积，0.5 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞数量则代入 500 即可；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①反应完成后应控制在 10 min 内完成吸光值检测，以确保检测结果的准确性和重复性；若检测样本较多建议分批进行检测；

②若 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；低于最低值建议制备更高浓度样本后再进行测定，计算时相应修改；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.