

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-F033

产品规格: 48T(32 sample)/96T(80 sample)

检测仪器: 荧光酶标仪(激发波长 535 nm, 发射波长 587 nm)

Elabscience®甘油三酯 (TG) 荧光法测试盒

Triglyceride (TG) Fluorometric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于测定血清血浆、组织、细胞中甘油三酯(TG)含量。

检测原理

甘油三酯(TG)通过酶转换后生成水解产物，水解产物在酶催化下生成荧光物质，通过检测荧光值大小，可计算甘油三酯含量。

检测组织或细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	酶工作液 (Enzyme Working Solution)	12 mL×1 瓶	25 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	提取液 (Extraction Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	探针 (Probe)	0.3 mL × 1 支	0.5 mL × 1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	1 mmol/L 标准品 (1 mmol/L Standard Solution)	0.5 mL × 1 支	0.5 mL × 1 支	2-8°C 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	96 孔×1 块		无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：荧光酶标仪(激发波长 535 nm，发射波长 587 nm)。

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 显色工作液的配制：

将试剂一：试剂三按49：1体积比进行混匀，现配现用，避光存放。

③ 30 $\mu\text{mol/L}$ 标准品的配制：

将试剂四：试剂二 = 30：970体积比进行混匀，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 可存放3天。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥
标准品浓度($\mu\text{mol/L}$)	0	6	12	18	24	30
30 $\mu\text{mol/L}$ 标准品(μL)	0	40	80	120	160	200
试剂二(μL)	200	160	120	80	40	0

样本准备

① 样本处理

血清(浆)等液体样本：可直接测定；

组织样本：匀浆介质为试剂二，匀浆后10000 \times g离心10 min，取上清待测，留取部分上清用于蛋白浓度测定。

细胞样本：取收集好的细胞按 1×10^6 ：0.2 mL试剂二匀浆，10000 \times g离心10 min，取上清待测，留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.8-30 $\mu\text{mol/L}$ ，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%猪心组织	3-6	10%猪肝组织	8-10
1×10^6 个 CHO 细胞	1-2	1×10^6 个 293T 细胞	1-2
人血清	100-120	小鼠血清	100-120

注：稀释液为试剂二。

实验关键点

显色工作液配制前需要将配制器具清洗几次，防止杂质污染。

操作步骤

① 标准孔：向酶标板相应孔中加入 20 μL 不同浓度标准品。

测定孔：向酶标板相应孔中加入 20 μL 待测样本。

② 向步骤①各孔中加入 200 μL 显色工作液。

③ 混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 5 min，酶标仪于激发波长 535 nm，发射波长 587 nm 检测各孔荧光值。

操作表

	标准孔	测定孔
待测样本(μL)	--	20
不同浓度的标准品(μL)	20	--
显色工作液(μL)	200	200
混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 5 min，酶标仪于激发波长 535 nm，发射波长 587 nm 检测各孔荧光值。		

检测组织或细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

组织与细胞样本中甘油三酯含量计算公式：

$$\begin{aligned} \text{甘油三酯含量} &= (\Delta F - b) \div a \div C_{pr} \times f \\ &(\mu\text{mol/gprot}) \end{aligned}$$

血清血浆样本中甘油三酯含量计算公式：

$$\begin{aligned} \text{甘油三酯含量} &= (\Delta F - b) \div a \times f \div 1000^* \\ &(\text{mmol/L}) \end{aligned}$$

注解：

y: 标准品荧光值-空白荧光值(标准品浓度为 0 时的荧光值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔF : 样本荧光值-空白荧光值(标准品浓度为 0 时的荧光值)

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度, gprot/L

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

1000*: $1000 \mu\text{mol} = 1 \text{mmol}$

附录1 关键数据

1. 技术参数

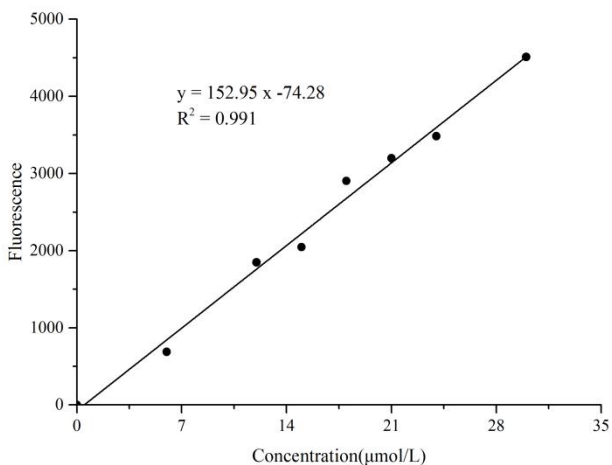
检测范围	0.8-30 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	9.1 %
灵敏度	0.8 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	3.9 %
平均回收率	105 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μL ，按照操作步骤进行实验，荧光值如下表所示：

标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	0	6	12	15	18	21	24	30
荧光值	1364	2032	3049	3402	4057	4330	4874	5703
	1267	1975	3280	3320	4382	4698	4724	5951
平均荧光值	1316	2003	3164	3361	4220	4514	4799	5827
绝对荧光值	0	687	1849	2045	2904	3198	3483	4511

② 绘制标曲(如下图)：



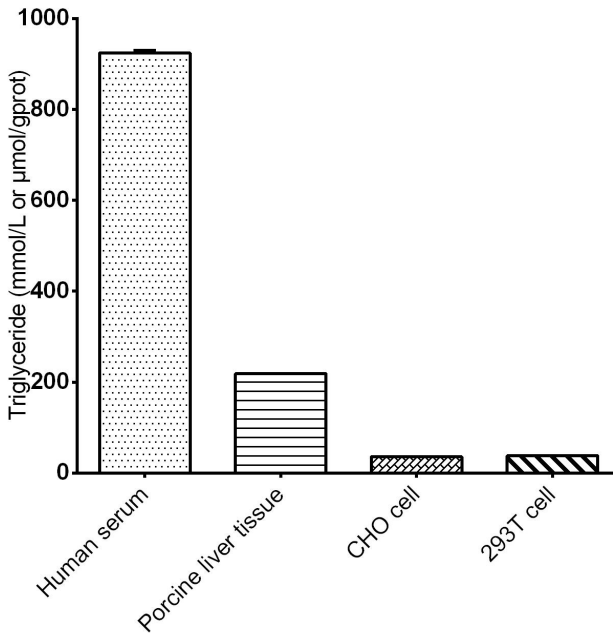
附录2 实例分析

例如检测猪心组织(数据仅供参考):

取人血清样本, 稀释100倍, 按说明书进行操作, 结果如下: 标准曲线: $y = 152.95x - 74.284$, 测定孔的荧光值: 2664, 空白孔荧光值: 1316, 计算结果为:

$$\text{甘油三酯含量 (mmol/L)} = (2664 - 1316 + 74.284) \div 152.98 \times 100 \div 1000 = 0.93 \text{ mmol/L}$$

按说明书操作, 测定人血清(稀释100倍, 加样量20 μL)、10%猪肝组织匀浆(10%组织匀浆蛋白浓度为5.67 gprot/L稀释5倍, 加样量20 μL)、 1×10^6 个CHO细胞(匀浆蛋白浓度为0.98 gprot/L, 加样量20 μL)、 1×10^6 个293T细胞(匀浆蛋白浓度为1.21 gprot/L, 加样量为20 μL)中的甘油三酯含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
标准曲线线性不合格	配制显色工作液容器中有杂质	清洗容器后再配制显色工作液

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。