

(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-K340-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(500-520 nm)

Elabscience[®]甘油比色法测试盒

Glycerol Colorimetric 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

本试剂盒适用于检测血清、血浆、动植物组织以及细胞样本中的甘油的含量。

检测原理

甘油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，因此，甘油含量是甘油三酯水解反应的可靠检测指标，检测更加方便。甘油经过酶转化产生过氧化氢，过氧化氢在 4-氨基安替吡啉和酚存在时，经过氧化物酶催化，生成红色醌类化合物，其颜色深浅与甘油含量成正比。

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)	工作液 (Working Solution)	12.5 mL×1 瓶	25 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	1.0 mmol/L 标准品 (1.0 mmol/L Standard)	1 mL×1 支	1 mL×2 支	2-8℃避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	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：酶标仪(500-520 nm, 最佳检测波长 510nm), 水浴锅

试剂：双蒸水、异丙醇、PBS(0.01 M, pH 7.4)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.1	0.2	0.4	0.5	0.6	0.8	1.0
1.0 mmol/L 标准品(μ L)	0	20	40	80	100	120	160	200
双蒸水(μ L)	200	180	160	120	100	80	40	0

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：直接检测。

组织样本：取组织 50~100 mg，用 PBS(0.01 M, pH 7.4)冲洗组织，滤纸吸干，按比例每 1mg 组织加 9 μ L 异丙醇，机械匀浆。70 $^{\circ}$ C 水浴 10 min 灭活，10000 \times g 离心 10 min，取上清待测。

细胞样本：取收集好的细胞按每 2×10^6 个细胞加入 0.1mL 异丙醇比例处理，混合裂解。70 $^{\circ}$ C水浴 10 min 灭活，10000 \times g 离心 10 min，取上清待测。

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：0.01-1.00 mmol/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%小鼠肝组织	2	10%小鼠肾组织	不稀释
10%小鼠脾组织	不稀释	细胞	不稀释

注：稀释液为双蒸水。

实验关键点

- ① 标准品和样本的加入要触板底加液。
- ② 测定 OD 值时，酶标板孔中不能有气泡。

操作步骤

- ① 标准孔:取 10 μL 不同浓度的标准品溶液,分别加入相应的酶标孔中。
测定孔: 取 10 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①中各孔加入 250 μL 试剂一,
- ③ 振板 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min, 酶标仪 510 nm 波长下检测各孔吸光度。。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品溶液(μL)	10	--
待测样本(μL)	--	10
试剂一(μL)	250	250
振板 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min, 酶标仪 510 nm 波长下检测各孔吸光度		

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清(浆)中甘油含量的计算公式:

$$\begin{aligned} \text{甘油含量} \\ (\text{mmol/L}) \end{aligned} = (\Delta A_{510} - b) \div a \times f$$

组织样本中甘油含量计算公式:

$$\begin{aligned} \text{甘油含量} \\ (\text{mmol/kg wet weight}) \end{aligned} = (\Delta A_{510} - b) \div a \times V \div m \times f$$

细胞样本中甘油含量计算公式:

$$\begin{aligned} \text{甘油含量} \\ (\mu\text{mol}/10^6) \end{aligned} = (\Delta A_{510} - b) \div a \times V \div N \times f$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 的 OD 值)

x: 吸光度对应的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

ΔA_{510} : 测定孔 OD 值-空白孔 OD 值

V: 加入异丙醇的体积(mL)

m: 样本质量(g)

N: 细胞的个数 10^6

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

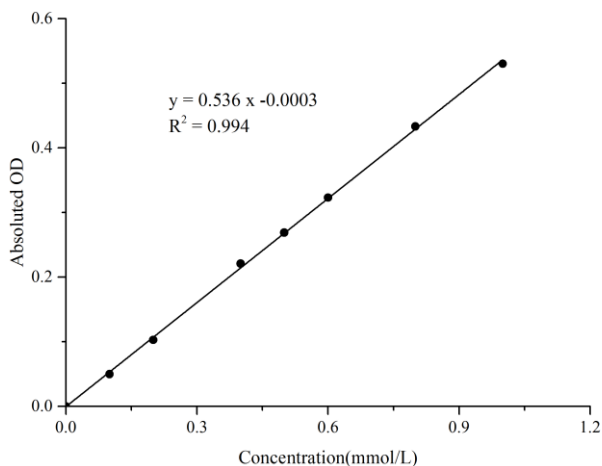
检测范围	0.01-1.00 mmol/L	平均批间差	8.0 %
灵敏度	0.01 mmol/L	平均批内差	4.0 %
平均回收率	98 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量10 μ L，按照操作步骤进行实验，各点OD值如下表所示：

标准品浓度 (mmol/L)	0.00	0.10	0.20	0.40	0.50	0.60	0.80	1.00
OD 值	0.072	0.123	0.175	0.301	0.342	0.395	0.512	0.607
	0.071	0.120	0.174	0.284	0.338	0.393	0.497	0.595
平均 OD 值	0.072	0.122	0.175	0.293	0.340	0.394	0.505	0.601
绝对 OD 值	0.000	0.050	0.103	0.221	0.269	0.323	0.433	0.530

②制标准曲线，如下图所示：



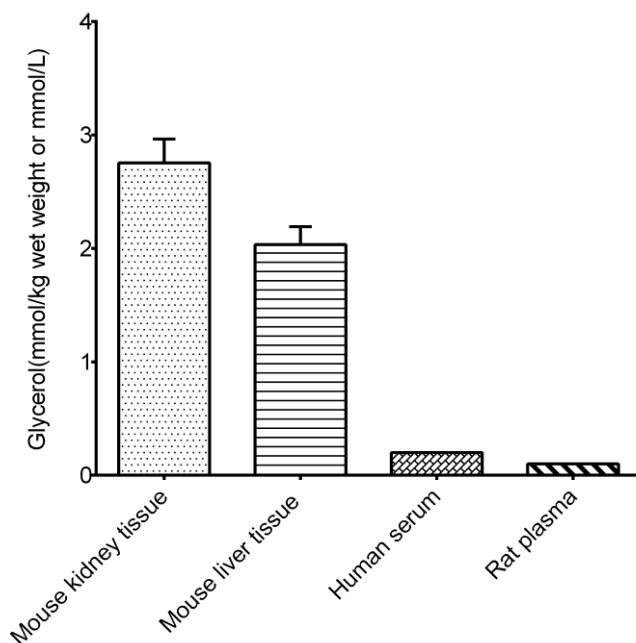
附录2 实例分析

例如检测小鼠肾组织(数据仅供参考):

取10%小鼠肾组织匀浆上清液10 μL , 按操作表操作, 结果如下: 标准曲线: $y = 0.536x - 0.003$, 空白孔平均OD值为0.072, 测定孔平均值为0.244, 计算结果为:

甘油含量
(mmol/kg wet weight) = $(0.244 - 0.072 + 0.003) \div 0.536 \times 0.9 \div 0.1 = 2.93$ mmol/kg wet weight

按说明书操作, 测定10%小鼠肾组织(加样量10 μL)、10%小鼠肝(加样量10 μL)、人血清(加样量10 μL)、大鼠血浆(加样量10 μL)中的甘油含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差较大	测定 OD 值时，酶标板孔中有气泡	小心加样
		小心用移液枪吹破
样本测不出值	样本稀释倍数太大	提高样本匀浆浓度

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。

附录4 客户发表文献

1. Peng Hao, Chen Binbin, Wei Wei et al. N-methyladenosine (mA) in 18S rRNA promotes fatty acid metabolism and oncogenic transformation.[J] .Nat Metab, 2022, 4: 1041-1054. IF:19.864
2. Inmaculada López-Almela, Marina Roman Pérez, Bullich-Vilarrubias C, et al. Bacteroides uniformis combined with fiber amplifies metabolic and immune benefits in obese mice[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1), 1865706. IF:10.245
3. Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2021:2001133. IF:5.914
4. Zhu T, Wang Z, Zou T, et al. SOAT1 Promotes Gastric Cancer Lymph Node Metastasis Through Lipid Synthesis. Front Pharmacol. 2021; 12:769647. IF:5.81
5. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. Pharmacological Research, 2019, 147, 104357. IF:5.574
6. Liu K , Zhao X , Qi X , et al. Design, synthesis, and biological evaluation of a novel dual peroxisome proliferator-activated receptor alpha/delta agonist for the treatment of diabetic kidney disease through anti-inflammatory mechanisms[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021, 218, 113388. IF:5.572
7. Jung D S, Son Y J, Shin J M, et al. Gymnaster Koraiensis Extract Alleviated Metabolic Syndrome Symptoms and Stimulated UCP1-Independent Energy Consumption via AMPK Activation in White Adipose Tissue[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2020. IF:5.309
8. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2020. IF:4.486
9. Ar?can E Y, Kayal? D G, Karaca B U, et al. Reproductive effects of subchronic exposure to acetamiprid in male rats[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 1-10. IF:3.998
10. Luo Y, Qiao X, Ma Y, et al. Disordered metabolism in mice lacking irisin[J]. Scientific Reports, 2020, 10(2). IF:3.998
11. Wang C , Hu N H , Yu L Y , et al. 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside attenuates hepatic steatosis via IKKβ/NF-kB and Keap1-Nrf2 pathways in larval

- zebrafish[J]. *BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY*, 2020, 127: 110138. IF:3.743
12. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
 13. Gomaa A A, Farghaly H S M, Dalia A, et al. Inhibition of adiposity and related metabolic disturbances by polyphenol-rich extract of *Boswellia serrata* gum through alteration of adipo/cytokine profiles[J]. *Inflammopharmacology*, 2018: 1-11. IF:3.304
 14. ul Haq M E, Akash M S H, Rehman K, et al. Chronic exposure of bisphenol A impairs carbohydrate and lipid metabolism by altering corresponding enzymatic and metabolic pathways[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020: 103387. IF:3.292
 15. Messiha B A S, Ali M R A, Khattab M M, et al. Perindopril ameliorates experimental Alzheimer's disease progression: role of amyloid β degradation, central estrogen receptor and hyperlipidemic-lipid raft signaling[J]. *Inflammopharmacology*, 2020. IF:3.283
 16. Kilany O E, Abdelrazek H M A, Aldayel T S, et al. Anti-obesity potential of *Moringa olifera* seed extract and lycopene on high fat diet induced obesity in male Sprague Dawley rats[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2020, 27(10): 2733-2746. IF:2.802
 17. Akinnuga A M, Siboto A, Khumalo B, et al. Bredemolic Acid Improves Cardiovascular Function and Attenuates Endothelial Dysfunction in Diet-Induced Prediabetes: Effects on Selected Markers[J]. *Cardiovascular Therapeutics*, 2020, 2020. IF:2.538
 18. Badmus O O, Sabinari I W, Olatunji L A. Dexamethasone increases renal free fatty acids and xanthine oxidase activity in female rats: could there be any gestational impact?[J]. *Drug and Chemical Toxicology*, 2020: 1-12. IF:2.405
 19. Gao G, Xie Z S, Li E W, et al. Dehydroabietic acid improves nonalcoholic fatty liver disease through activating the Keap1/Nrf2-ARE signaling pathway to reduce ferroptosis[J]. *Journal of Natural Medicines*, 2021:1-13. IF:2.343
 20. Wang F, Chen H, Chen Y, et al. Diet-induced obesity is associated with altered expression of sperm motility-related genes and testicular post-translational modifications in a mouse model[J]. *Theriogenology*, 2020. IF:2.094
 21. Akinnuga A M, Siboto A, Khumalo B, et al. Bredemolic Acid Ameliorates Selected Liver Function Biomarkers in a Diet-Induced Prediabetic Rat Model[J]. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2020, 2020. IF:2.055
 22. Rahman S U, Huang Y, Zhu L, et al. Tea polyphenols attenuate liver inflammation by modulating obesity-related genes and down-regulating COX-2 and iNOS expression in

high fat-fed dogs[J]. *BMC Veterinary Research*, 2020, 16(1): 1-12. IF:1.835

23. Adeyemi W J, Abdussalam T A, Abdulrahim A, et al. Elevated, sustained, and yet reversible biotoxicity effects of lead on cessation of exposure: Melatonin is a potent therapeutic option[J]. *Toxicology and Industrial Health*, 2020, 36(7): 477-486. IF:1.708
24. Hassan S, Moustafa A, Kabil S L, et al. Alagebrium Mitigates Metabolic Insults in High Carbohydrate and High Fat Diet Fed Wistar Rats[J]. *Pharmaceutical Sciences*, 2020, 26(1): 13-24. IF:1.24
25. Dewi L, Lestari L A, Astiningrum A N, et al. The Alleviation Effect of Combination of Tempeh and Red Ginger Flour towards Insulin Sensitivity in High-Fat Diet Rats[J]. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2020, 8(1): 21-25. IF:0.756
26. USLU H, USLU G A, ?ZEN H, et al. Effects of different doses of *Prunus laurocerasus* L. leaf extract on oxidative stress, hyperglycaemia and hyperlipidaemia induced by type I diabetes[J]. 2018.
27. Olakanmi Bodun O, Olorundare Olufunke E, Afolabi Olanrewaju O, et al. Assessment of the Effects of Crude Methanolic Extracts (Leaf and Twig) of *Loranthus micranthus* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats[J]. *Journal of Diabetes and Islet Biology*, 2020, 10: 2641-8975.
28. Singh P, Garg R, Goand U K, et al. Combination of Pancreastatin inhibitor PSTi8 with metformin inhibits Fetuin-A in type 2 diabetic mice[J]. *Heliyon*, 2020, 6(10): e05133