



甘油含量（Glycerol）测定试剂盒说明书（简化版）

（货号:F005-2-1 适用于做组织样本）

一、测定原理：

在 ATP 存在下甘油被甘油激酶磷酸化为 3-磷酸甘油，再被甘油磷酸氧化酶氧化产生过氧化氢；在过氧化氢酶作用下生色底物转化为苯醌亚胺，光密度值与甘油浓度成正比。

二、试剂组成及配制: (100~500T)

试剂组成	规格	保存条件
裂解液	100ml×1 瓶	本试剂盒 4℃避光 保存，有效期 3 个月
R1	16ml×1 瓶	
R2	10ml×1 瓶	
4mM 甘油标准品	4ml×1 瓶	
工作溶液的配制: 按 R1:R2= 4:1 比例，即取 4ml 试剂 R1 与 1ml 试剂 R2 混合，现用现配,用多少配多少		
[注]:谨防来源不明但容易发生的甘油污染，可来自操作者本人或标准品液体微粒溅射等。工作液变色弃去。		
可供 100 次微板测定或 30 次 1 ml 比色杯测定。		

三、所需设备：

酶标仪、可见光分光光度计（721、722 型）、生化分析仪。

四、操作过程：

1、样本处理：详见说明书或本公司官网-技术文章部分关于样本处理的说明。测定组织和细胞同时需要测定蛋白浓度。可用本所的 A045-2 总蛋白定量测试盒（考马斯亮蓝法）或者 A045-3、A045-4 总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

2、标准品稀释：

用蒸馏水、生理盐水或与样品缓冲液一致的液体，将 4 mM 甘油标准品倍比稀释为 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125 $\mu\text{mol/L}$ ，通常 4~6 管即可，注意设置 0 浓度对照反应管。



3、操作表:

	96 孔微板测定			1ml 比色杯测定		
	空白管	标准管	测定管	空白管	标准管	测定管
蒸馏水	10 μ l			35 μ l		
标准品		10 μ l			35 μ l	
样品			10 μ l			35 μ l
工作溶液	190 μ l	190 μ l	190 μ l	665 μ l	665 μ l	665 μ l

五、计算

- 1、绘制标准曲线并计算甘油浓度。Excel 作图步骤：各标准管 OD 值为 y 轴，标准品浓度为 x 轴。① 鼠标左键圈住数据，点击做图向导，选择-散点图-，点击-完成-。② 鼠标右键点图上的某一点，点击-添加趋势线-，点击-选项-，点击-显示公式-和- R^2 值-。
- 2、以每 mg 蛋白浓度或细胞数校正甘油含量。