

脂肪分解试剂盒

产品说明

检测原理：通过酶偶联反应检测脂肪分解终产物甘油的含量，颜色深浅与甘油量成正比。

产品特点

灵敏、准确：检测只需 10 μL 样本。甘油的线性检测范围：比色法 0.92 - 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (10 -1000 μM)；荧光法 0.2 - 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (2 - 50 μM)。

简便、快速：整个检测过程只需加入一种工作试剂，并在室温下反应 20 分钟。

高通量：在 570nm 条件下，极大地降低了药物的潜在干扰，并能兼容培养基中的酚红。检测适用 96 孔板或 384 孔板。

适用范围

1. 能够直接检测细胞培养物内的甘油含量，从而分析脂肪水解程度。
2. 在药物和药理研究中，检测药品对脂肪水解的影响。

试剂盒组成(96 孔板供 100 份测试):

缓冲液： 12 mL 酶试剂： 250 μL

ATP： 120 μL 显色剂： 120 μL

标准品： 100 μL 100 mM 甘油

储运条件：试剂盒需冰袋运输，缓冲液在 4°C 贮存，其他试剂在 -20°C 贮存。

预防措施：本产品仅供研究用。使用过程中应严格遵循实验安全措施。

比色法检测步骤

样品中应避免含有 -SH 基团的干扰试剂(如巯基乙醇，DTT)。检测前，将所有试剂放置至室温。在检测过程中将解冻的酶试剂置冰上或冰箱内保存。

1. 细胞培养：将细胞(如前脂肪细胞，脂肪细胞等)置于培养板内(24 孔板，96 孔板或 384 孔板)培养。如需进行药物试验，则用待测药物处理细胞并培养相应时间(注：细胞及待测药物须自行准备，本试剂盒并未提供)。
2. 标准品与样品：将 10 μL 标准品(100 mM)与 910 μL 培养基(与细胞培养相同)混合，得到 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准品。按下表比例稀释标准品，并各取 10 μL 放入透明平底的 96 孔板中(或取 5 μL 放入 384 孔板中)。

编号	100µg/mL 标准品+培养基	容量	甘油含量
1	400µL + 0µL	400 µL	100 µg/mL
2	300µL + 200µL	500 µL	60 µg/mL
3	150µL + 350µL	500 µL	30 µg/mL
4	0µL + 500µL	500 µL	0

从细胞培养孔中收集上清液(样品需立即检测或于-20°C 贮藏), 取 10 µL 样品(或 5 µL 用于 384 孔板), 放入检测板上的不同孔中。

3. 显色反应: 取洁净试管, 按如下比例为每检测孔配制足量的工作试剂: 100µL 缓冲液, 2µL 酶试剂, 1µL ATP, 1µL 染色剂。将 100µL 工作试剂加入各检测孔(或 50µL 于 384 孔板), 轻拍使其混合。

4. 室温下反应 20 分钟后, 在 570nm (550-585nm)下读取吸光度。

荧光法检测步骤

标准品: 仿比色法稀释标准品, 并各取10µL与190µL蒸馏水混合。混合后的甘油浓度分别为5.0、3.0、1.5 和 0 µg/mL。

样本: 取10µL 细胞培养上清液, 加入190µL 蒸馏水稀释(稀释系数为 $n = 20$)。

取 5µL 稀释后的标准品与样品, 放入黑色96孔板或384孔板的不同的孔中。加入50µL 工作试剂, 轻拍使其混合。室温下反应20分钟, 在 $\lambda_{ex} = 530nm$ 和 $\lambda_{em} = 585nm$ 下读取荧光值。

浓度计算:

用标准品的值 $R_{标准品}$ 减去空白对照值 $R_{空白}$ (缓冲液, 4 号), 对标准品浓度作图得出斜率。样品的甘油浓度计算如下:

$$\text{甘油浓度} = \frac{R_{\text{样品}} - R_{\text{空白}}}{\text{斜率}} \times n \quad (\mu\text{g/mL})$$

备注: 若计算出样品的甘油浓度高于标准品, 需用水稀释样品并重复检测, 结果需乘稀释系数(n)。

实验必需品(未提供): 吸量管、离心管、适当的96孔或384孔板、酶标仪。