

3-磷酸甘油（Glycerol-3-phosphate, G3P）含量测定试剂盒说明书

（货号：BP10181W 微板法 96 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

3-磷酸甘油(G3P)被甘油磷酸氧化酶(GPO)氧化生成过氧化氢(H_2O_2)， H_2O_2 与 4-氨基氨替吡啉等反应生成红色醌类化合物，其在 510nm 处有特征吸收峰，通过检测 510nm 处吸光值即可得出甘油含量。

二、试剂盒的组分与配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 1 支	4℃保存	1. 临用前 8000g 4 ° C 离心 2min 使试剂落入管底（可手动甩一甩）； 2. 加入 1.1mL 蒸馏水，充分震荡溶解； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	液体 12mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 6mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	1. 本标准品即 3-磷酸甘油的浓度为 8mM，稀释 1 倍后成 4mM 用于标准品待检测液； 2. 保存周期与试剂盒有效期相同。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织样本加入研钵中，加入 1mL 提取液，在冰上进行匀浆，12000rpm，4℃或室温离心 10min，取上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（ 10^4 ）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：澄清的液体样本直接测定，若浑浊则离心后取上清检测。

2、检测步骤：

① 酶标仪预热 30min，调节波长到 510 nm。

② 所有试剂解冻至室温（25℃）。

③ 在 96 孔板中依次加入：

试剂组分（μL）	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
标准品		10	
样本	10		
试剂一	10	10	10
试剂二	120	120	130
试剂三	60	60	60
混匀，室温（25℃）避光孵育 60min，于 510nm 读取各管 A 值 (直到 A 值不变)。			

【注】若测定管的 A 值小于 0.05，则需增加上样量 V1（如增至 40μL，则试剂二相应减小），样本量 V1 需代入计算公式重新计算。若测定管的 A 值大于 1，则需将样本进行稀释（用提取液稀释）或减少样本加样量 V1（如减至 5μL，则试剂二相应增加），稀释倍数 D 或样本量 V1 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、按样本质量计算：

$$\begin{aligned} 3\text{-磷酸甘油}(\mu\text{mol/g 重量}) &= (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 4 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D \\ 3\text{-磷酸甘油}(\mu\text{g/g 重量}) &= (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 864.16 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D \end{aligned}$$

2、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} 3\text{-磷酸甘油}(\mu\text{mol}/104 \text{ cell}) &= (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 4 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div 500 \times D \\ 3\text{-磷酸甘油}(\mu\text{g}/104 \text{ cell}) &= (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 864.16 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div 500 \times D \end{aligned}$$

3、液体中甘油含量计算：

$$\begin{aligned} 3\text{-磷酸甘油}(\text{mmol/L}) &= (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V1 \times D \\ &= 4 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D \\ 3\text{-磷酸甘油}(\mu\text{g/mL}) &= (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div V1 \times D \\ &= 864.16 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \times D \end{aligned}$$

4、按蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} 3\text{-磷酸甘油}(\mu\text{mol/mg prot}) &= (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (Cpr \times V1 \div V) \times D \\ &= 4 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div Cpr \times D \\ 3\text{-磷酸甘油}(\mu\text{g/g prot}) &= (C \text{ 标准} \times V2) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (Cpr \times V1 \div V) \times D \\ &= 864.16 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div Cpr \times D \end{aligned}$$

C 标准---4mmol/L=4μmol/mL=864.16μg/mL; V---提取液体积，1mL;
V1---样本加入体积，0.01mL; V2---标准品加入体积，0.01mL;
500---细胞数量，万; D---稀释倍数,未稀释即为 1;
W---样本取样质量，g。
Cpr---蛋白浓度（mg/mL）；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。