



甘油三酯(TG)测试盒说明书

(货号:A110-1-1 GPO-PAP 酶法 单试剂型 微板法)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验,否则由此导致的后果用户自行承担!

一、试剂组成及配制(96T):

试剂组成	规 格	组 份	浓 度	保 存
工作液 (酶剂)	25mL×1 瓶	Tris-HCL 缓冲液	100mmol/L	2-8℃ 避光
		脂肪酶	≥3000U/L	
		ATP	0.5mmol/L	
		甘油激酶	≥1000U/L	
		3-磷酸甘油氧化酶	≥5000U/L	
		过氧化物酶	≥1000U/L	
		4-氨基安替比林	1.4mmol/L	
校准品	0.1mL×1 支	对氯酚	3mmol/L	
附送 96 孔平底酶标板一块				室温

二、测定原理: (GPO-PAP 法)

$$\text{甘油三酯} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{脂肪酶}} \text{甘油} + \text{脂肪酸}$$
$$\text{甘油} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{甘油激酶}} \text{甘油} - 3 - \text{磷酸} + \text{ADP}$$
$$\text{甘油} - 3 - \text{磷酸} + \text{O}_2 \xrightarrow{3 - \text{磷酸甘油氧化酶}} \text{磷酸羟基丙酮} + \text{H}_2\text{O}_2$$
$$\text{H}_2\text{O}_2 + 4 - \text{AAP} + \text{对氯酚} \xrightarrow{\text{过氧化物酶}} \text{红色醌化物}$$

生成的醌类化合物颜色的深浅与甘油三酯的含量成正比,分别测定标准管和样本管的吸光度值,可计算样本中甘油三酯的含量。

三、操作过程:

1、样本处理:

- ①、**血清(浆):** 直接测定,如超过线性范围用生理盐水稀释后测定。
- ②、**培养液样本:** 吸取培养液,1000 转/分,离心 10 分钟,取上清测定。**[注]:** 一般建议细胞密度在 100 万个/mL 以上。
- ③、**组织样本:** 准确称取组织重量,按重量(g): 体积(mL)=1: 9 的比例,加入 9 倍体积的匀浆介质,冰水浴条件下机械匀浆,2500 转/分,离心 10 分钟,取上清液待测。**[注]:** 如组织样本为非高脂样本,匀浆介质用磷酸盐缓冲液(0.1mol/L pH 7.4)或生理盐水(0.9%)进行提取;如组织样本为高脂样本或部分为高脂样本,匀浆介质可统一用无水乙醇进行提取。
- ④、**细胞样本:**

A、细胞收集: 将制备好的细胞悬液取出,1000 转/分,离心 10 分钟,弃上清液,留细胞沉淀;用等渗缓冲液(推荐 0.1mol/L、pH7~7.4 磷酸盐缓冲液)清洗 1~2 次,同样 1000 转/分,离心 10 分钟,弃上清液,留细胞沉淀;

B、细胞破碎: 加入 0.2~0.3mL 的匀浆介质(推荐 0.1mol/L、pH7~7.4 磷酸盐缓冲液或生理盐水)进行匀浆,冰水浴条件下超声破碎(功率:300W,3~5 秒/次,间隔 30 秒,重复 3~5 次)或手动匀浆,制备好的匀浆液不离心直接测定。也可采用裂解液裂解(推荐 TritonX-100, 1~2%,裂解 30~40 分钟),裂解好的液体不离心直接测定。**[注]:** 建议细胞密度在 100 万个/mL 以上。破碎好的液体可显微镜观察细胞是否破碎完全

2、操作表:

	空白孔	标准孔	样本孔
蒸馏水 (μL)	2.5		
校准品 (μL)		2.5	
样本 (μL)			2.5
工作液 (μL)	250	250	250
震荡孔板混匀, 37℃ 孵育 10 分钟, 波长 500nm, 酶标仪测定各孔吸光度值。			

四、计算公式及举例:

1、血清等液体样本计算公式:

$$\text{甘油三酯含量 (mmol/L)} = \frac{A_{\text{样本孔}} - A_{\text{空白孔}}}{A_{\text{标准孔}} - A_{\text{空白孔}}} \times C_{\text{标准}}$$

$C_{\text{标准}}$: 标准品浓度, mmol/L。

2、组织、细胞计算公式:

- ①、用 PBS 或生理盐水作匀浆介质提取样本计算方法(此方法需要另外测定匀浆液蛋白浓度):

$$\text{甘油三酯含量 (mmol/gprot)} = \frac{A_{\text{样本孔}} - A_{\text{空白孔}}}{A_{\text{标准孔}} - A_{\text{空白孔}}} \times C_{\text{标准}} \div \text{Cpr}$$

Cpr: 待测组织样本匀浆蛋白浓度, gprot/L。(prot 指蛋白)测定蛋白浓度的试剂盒本所有售 (A045-2/A045-3/-4)

- ②、用无水乙醇作匀浆介质提取样本计算方法(此方法不需要另外测定匀浆液蛋白浓度):

$$\text{甘油三酯含量 (mmol/g鲜重)} = \frac{A_{\text{样本孔}} - A_{\text{空白孔}}}{A_{\text{标准孔}} - A_{\text{空白孔}}} \times C_{\text{标准}} \div \frac{W}{V_{\text{提取液}}}$$

W: 组织重量 (g); **V_{提取液}:** 加入的提取液(乙醇)的总体积, L。

注: 细胞样本测定时可可将上式中的 $\frac{W}{V_{\text{提取液}}}$ 替换为细胞前处理时的细胞密度。

五、产品描述:

本试剂盒采用 GPO-PAP 法配制,用于体外测定甘油三酯含量。适用于各型酶标仪。

六、性能指标:

- 1、试剂空白管吸光度 ≤ 0.200 (光径 0.5cm)。
- 2、线性: 0.3~11.4mmol/L 范围内, $r^2 > 0.995$ 。
- 3、准确度: 相对偏差 ≤ 10%。
- 4、灵敏度: 测试 2.7mmol/L 被测物时, 吸光度值 ΔA 在 0.2000~0.4000 之间。
- 5、重复性: 测量精密度 ≤ 5.0%, 批间差 ≤ 8.0%。
- 6、稳定性: 原包装试剂盒在 2℃~8℃ 避光保存, 有效期为 12 个月。开启后 2℃~8℃ 避光可稳定一个月。

七、注意事项:

- 1、本产品仅用于科研,不得用于临床诊断,切勿服用。
- 2、样品含量如超出检测范围上限时,可用生理盐水稀释样本后进行测定,测定结果乘以稀释倍数。
- 3、试剂防止葡萄糖、胆固醇等试剂的污染。
- 4、试剂与样本量可按照全自动生化分析仪的要求,按照 1: 100 的比例增减。
- 5、测定样本时若测定 OD 值大于 0.8, 请将样本稀释后测定。

八、参考文献:

- 1、叶应妩、王毓三 全国临床检验操作规程 第三版, 东南大学出版社, 2006, P479。