

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)

一、试剂组成及配制(96T):

试剂组成	规格	组 份	浓 度	保存条件
工作液 (酶剂)	25ml×1 瓶	Tris-HCL 缓冲液	100mmol/L	2~8℃ 避光保存
		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	
		对氯酚	3mmol/L	
校准品	0.1ml×1 支	甘油之bmmo	/L 见标签	
附送 96 孔平底酶标板一块				室温放置

二、测定原理: (GPO-PAP法)

甘油三酯+H2O-脂肪酶→甘油+脂肪酸

甘油+ATP—甘油激酶→甘油-3-磷酸+ADP

甘油-3-磷酸+O, -3-磷酸甘油氧化酶 - 磷酸羟基丙酮+H2O2

H₂O₂ + 4 − AAP + 对氯酚 — ^{过氧化物酶} → 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]:1、如组织样本为非高脂样本,匀浆介质统一用磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L pH 7.4)或生理盐水进行提取。

2、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 0.1 mol/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 $0.2\sim0.3$ ml 的匀浆介质 (推荐 0.1mol/L pH7 \sim 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]: 一般建议细胞密度在 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:

96 孔板操作,酶标仪比色					
	空白孔	标准孔	样本孔		
蒸馏水 (μl)	2.5				
校准品 (μl)	701/2000	2.5			
样本 (µl)	ALBERT WALL		2.5		
工作液 (μl)	250	250	250		
混匀, 37℃孵育 10 分钟	***.波长 510nm,酥	海标仪测定各孔 吸	光度值。		

			The state of the s				
	全自动生化分析仪上	机操作					
样本量/水	Sample Volume	μ1	2.5				
工作液	reagent	μΙ	250				
37℃孵育1	37℃孵育 10 分钟,工作液+蒸馏水调零,测定光吸收值 A。						
主波长	Main wavelength	nm	510				
反应类型	Reaction type		终点法				
反应方向	Reaction direction		升反应(+)				

四、计算公式及举例:

1、血清等液体样本计算公式:

酶标仪比色: 甘油三酯含量_样本OD值-空白OD值、校准品浓度 (mmol/L) 校准OD值-空白OD值 (mmol/L)

全自动生化分析仪: $\frac{\text{甘油三酯含量}}{\text{(mmol/L)}} = \frac{A_{\mu}}{A_{k}} \times \frac{$ 校准品浓度 (mmol/L)

a、取正常人血浆2.5μl, 按操作表操作, 得空白孔吸光度0.0573, 校准孔吸光度0.2340, 样本孔吸光度0.1283, 则计算如下:

甘油三酯含量 = 样本OD值 - 空白OD值 \times 校准品浓度 = $\frac{0.1283 - 0.0573}{0.2340 - 0.0573} \times 2.26 = 0.908 \, \text{lmmol}/L$

b、取大鼠血浆2.5_山,按操作表操作,得空白孔吸光度0.0573,校准孔吸光度0.2340,样本孔吸光度0.1030, 则计算如下:

甘油三酯含量 = $\frac{\text{样本}OD$ 值 - 空白OD值 \times 校准品浓度 = $\frac{0.1030 - 0.0573}{0.2340 - 0.0573} \times 2.26 = 0.5845 \text{mmol}/L$

2、组织、细胞计算公式:

全自动生化分析仪: $\frac{\text{甘油三酯含量}}{(\text{mmol/gprot})} = \frac{A_{\#}}{A_{\&}} \times \frac{$ 校准品浓度 \div \div $\frac{1}{2}$ \div $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{2}$ \div $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{2}$

a、取10%小鼠肝匀浆2.5μl, 按操作表操作, 得空白孔吸光度0.0580, 校准孔吸光度0.2352, 样本孔吸光度0.1583, 同时测得10%小鼠肝匀浆蛋白浓度为12.0121gprot/L,则计算如下:

甘油三酯含量
$$=$$
 样本 OD 值 $-$ 空白 OD 值 \times 校准品浓度 \div 特测样本蛋白浓度 校准 OD 值 $-$ 空白 OD 值 \times (mmol/L) \div (gprot/L) $=$ $\frac{0.1583 - 0.0580}{0.2352 - 0.0580} \times 2.26 \div 12.0121 = 0.1065 mmol/gprot$

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、半自动或全自动生化分析仪。

六、性能指标:

- 1、试剂空白管吸光度≤0.200 (光径 0.5cm)。
- 2、线性: 0~9.04mmol/L 范围内, r²>0.995。
- 3、准确度: 相对偏差<10%。
- 4、灵敏度: 测试 2.26mmol/L 被测物时,吸光度值 △ A 在 0.2200~0.2900 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℃避光保存,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。

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。