

甘油三酯(TG)检测试剂盒(GPO-PAP 双试剂微板法)

简介:

甘油三酯(Triglyceride, TG)又称三酰甘油, 是3分子长链脂肪酸和甘油形成的脂肪分子, 是人体内含量最多的脂类, 大部分组织均可以利用甘油三酯分解产物供给能量, 同时肝脏、脂肪等组织还可以进行甘油三酯的合成, 用酶学方法测定TG是生化检测中的常用方法, 其特点是: 1、灵敏度、准确度、精密程度均高; 2、使用温和的反应条件; 3、操作简便; 4、适用于半自动生化分析仪。

源叶生物甘油三酯(TG)检测试剂盒(GPO-PAP 双试剂微板法)又称磷酸甘油氧化酶法或磷酸甘油氧化酶-过氧化物酶偶联法等, 其原理是甘油三酯被脂蛋白酯酶(LPL)水解为甘油和脂肪酸, 甘油经甘油激酶(GK)和三磷酸腺苷(ATP)磷酸化为3-磷酸甘油(G-3-P), 后被磷酸甘油氧化酶(GPO)氧化并产生过氧化氢, 再经过氧化物酶(POD)、4-氨基安替比林(4-AAP)与酚(三者合称PAP)反应, 生成红色苯醌亚胺(Trinder反应), 苯醌亚胺的最大吸收在510nm波长处, 吸光度与样本中甘油三酯含量呈正比, 可通过酶标仪在500~520nm处进行比色测定。本试剂盒用于人或动物的血清、细胞、组织等样本中的甘油三酯含量定量测定。本试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称		编号	R21740	Storage
			100T	
试剂(A): 缓冲液	Tris-HCl buffer		24ml	4℃ 避光
	氯化镁、对氯酚			
试剂(B): 酶试剂	Tris-HCl buffer		6ml	-20℃ 避光
	4-AAP、ATP、GK			
	LPL、GPO、POD			
临用前, 按 A: B=4: 1 混合, 即为 GPO-PAP 工作液, 4℃ 保存。				



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

试剂(C): Glycerol 标准(1.7mmol/L)	1ml	4℃
使用说明书	1份	

自备材料:

- 1、ddH₂O、生理盐水或 PBS
- 2、离心管或小试管、水浴锅或恒温箱
- 3、酶标仪、96 孔板、半自动生化分析仪

操作步骤(仅供参考):

- 1、样本处理:
 - ①血清、血浆、脑脊液样本: 从待测样本中分离出的血清或血浆不应有溶血, 直接检测, 如超过线性范围, 用生理盐水稀释后检测。
 - ②细胞样本:
 - a、取适量的细胞(一般推荐 $>10^6$ 以上), 1000g 离心 10min, 弃上清, 留取沉淀。
 - b、用 PBS 或生理盐水清洗 1~2 次, 1000g 离心 10min, 弃上清, 留取沉淀。
 - c、加入 200~300 μ l 的 PBS 或生理盐水匀浆, 冰浴条件下超声破碎细胞, 功率 300W, 每次 3~5s, 间隔 30s, 重复 3~5 次。亦可手动匀浆, 制备好的匀浆液不可离心; 亦可用 1~2% Triton X-100 冰浴 30~60min, 制备好的裂解液不可离心。
 - ③组织样本: 准确称取适量组织样本, 按质量(g): 生理盐水或 PBS(ml)=1: 9 的比例, 加入生理盐水或 PBS, 冰浴条件下手动或机械匀浆, 2500~3000g 离心 10min, 取上清待用。
- 2、配制 GPO-PAP 工作液: 将缓冲液和酶试剂按 4:1 体积比混合均匀即成。
- 3、酶标仪 TG 测定操作:



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

①按下表依次加入试剂:

加入物(μ l)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH ₂ O	2.5	—	—
Glycerol 标准(1.7mmol/L)	—	2.5	—
待测样本	—	—	2.5
GPO-PAP 工作液	250	250	250

②充分混匀, 37℃水浴锅或恒温箱中孵育 10min。

③酶标仪测定 500~520nm 吸光度, 以空白孔调零, 读取标准孔和各待测孔的吸光度。

4、半自动生化分析仪 TG 测定操作:

①机器参数设置:

波长	温度	延迟时间	测量时间	试剂空白	反应类型	吸入量
510-550nm	37℃	2s	2s	要	终点法	800 μ l

②按下表依次加入试剂:

加入物(μ l)	空白管	标准管	待测管
ddH ₂ O	10	—	—
Glycerol 标准(1.7mmol/L)	—	10	—
待测样本	—	—	10
GPO-PAP 工作液	1000	1000	1000

③充分混匀, 37℃水浴中孵育 10min。以空白管调零, 读取标准管和各待测管的吸光度。

计算公式:

血清、血浆等液体样本(空白调零):

$$\text{TG}(\text{mmol/L}) = (\text{待测管吸光度} / \text{标准管吸光度}) \times 1.7 \text{mmol/L}$$

细胞、组织等样本(空白调零):

$$\text{TG}(\text{mmol/g}) = (\text{待测管吸光度} / \text{标准管吸光度}) \times 1.7 \text{mmol/L} \div \text{待测样本蛋白浓度}(\text{mg/ml})$$



参考区间:

健康成年人理想范围: $<1.7\text{mmol/L}(<150\text{mg/dl})$

边缘升高: $<1.7\sim 2.25\text{mmol/L}(150\sim 199\text{mg/dl})$

升高: $<2.26\sim 5.64\text{mmol/L}(200\sim 499\text{mg/dl})$

很高: $\geq 5.65\text{mmol/L}(\geq 500\text{mg/dl})$

性能指标:

外观	无色至淡黄色澄清液体
线性范围	$0.05\sim 9.0\text{mmol/L}(4\sim 790\text{mg/dl})$, $R^2>0.98$
灵敏度	检测下限 $0.05\text{mmol/L}(4\text{mg/dl})$
变异系数	批内 $<5\%$, 批间 $<8\%$, 总误差 $<10\%$
空白吸光值	$<0.2(1\text{cm 光径})$
干扰因素	胆红素 $<205\mu\text{mol/L}$; 血红蛋白 $<6\text{g/L}$; EDTA、肝素抗凝时, 对结果无影响。

注意事项:

- 1、上述低温试剂避免反复冻融, 以免失效或效率下降。
- 2、本法可直接用于检测脑脊液中的 TG 含量, 但不能直接检测尿液中的 TG 含量, 因为未经处理的尿液中含有还原性物质, 影响过氧化物酶反应。
- 3、待测样本如不能及时测定, 应置于 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存, 3 天内稳定。
- 4、本法线性范围可达 9.0mmol/L , 如果样本 TG 浓度过高, 结果可能呈假性降低, 应用生理盐水稀释后重测, 结果乘以稀释倍数。
- 5、工作试剂应防止葡萄糖、胆固醇等试剂的污染。
- 6、试剂易受空气氧化而变红, 需做空白测定。
- 7、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 6 个月有效。 4°C 运输, -20°C 保存。