

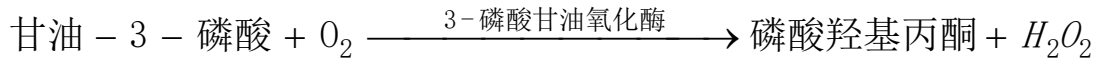
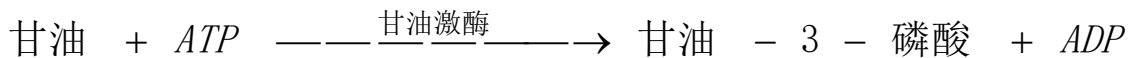
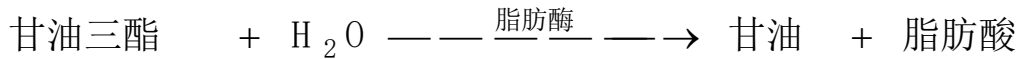
甘油三酯(TG)测试盒

(货号: BC010 微板法)

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°C 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	
对氯酚	3mmol/L			
校准品	0.1mL×1 支	-	见标签	
附送 96 孔平底酶标板一块				室温

二、测定原理: (GPO-PAP 法)



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。

例 1、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,

$$\text{甘油三酯含量 (mmol/L)} = \frac{0.1283 - 0.0573}{0.2340 - 0.0573} \times 2.26 = 0.9081\text{mmol/L}$$

样本孔吸光度 0.1283, 则计算如下:

例2、取大鼠血浆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0.1030, 则计算如下:

$$\text{甘油三酯含量 (mmol/L)} = \frac{0.1030 - 0.0573}{0.2340 - 0.0573} \times 2.26 = 0.5845\text{mmol/L}$$

2、组织、细胞计算公式:

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):

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

C_{pr} : 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。

例: 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:

$$\begin{aligned} \text{甘油三酯含量} &= \frac{0.1583 - 0.0580}{0.2352 - 0.0580} \times 2.26 \div 12.0121 \\ (\text{mmol/gprot}) &= 0.1065 \text{ mmol/gprot} \end{aligned}$$

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 $\leq 10\%$ 。
- 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 $\leq 5.0\%$, 批间差 $\leq 8.0\%$ 。
- 6、稳定性: 原包装试剂盒在 2°C ~ 8°C 避光保存, 有效期为 12 个月。开启后 2°C ~ 8°C 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。