

甘油三酯(TG)检测试剂盒(GPO-PAP 双试剂微板法)

产品简介

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。

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。

产品组成

| 名称 | | 编号 | ADS168TC0 100T | Storage |
|---|-----------------|-------------|-------------------|---------|
| 试剂(A): 缓冲液 | Tris-HCl buffer | 氯化镁、对氯酚 | 24ml | 4°C 避光 |
| | | | | |
| 试剂(B): 酶试剂 | Tris-HCl buffer | LPL、GPO、POD | 6ml | 4°C 避光 |
| | 4-AAP、ATP、GK | | | |
| | | | | |
| 临用前, 按 A: B=4: 1 混合, 即为 GPO-PAP 工作液, 4°C保存。 | | | | |
| 试剂(C): Glycerol 标准(1.7mmol/L) | | | 1ml | 4°C |
| 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:

①按下表依次加入试剂, 充分混匀, 37°C 水浴锅或恒温箱中孵育 10min。

| 加入物(μ l) | 空白孔 | 标准孔 | 待测孔 |
|------------------------|-----|-----|-----|
| 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°C | 2s | 2s | 要 | 终点法 | 800 μ l |

②按下表依次加入试剂, 充分混匀, 37°C 水浴中孵育 10min。

| 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):

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

细胞、组织等样本(空白调零):

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

参考区间

健康成年人**理想范围**: <1.7mmol/L(<150mg/dl)

边缘升高: <1.7~2.25mmol/L(150~199mg/dl)

升高: <2.26~5.64mmol/L(200~499mg/dl)

很高: ≥565mmol/L(≥500mg/dl)

性能指标:

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

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、GPO-PAP 工作液即配即用, 不宜 4℃长期保存。
- 3、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。
- 4、待测样本如不能及时测定, 应置于 2~8℃保存, 3 天内稳定。
- 5、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。
- 6、工作试剂应防止葡萄糖、胆固醇等试剂的污染。
- 7、试剂易受空气氧化而变红, 需做空白测定。
- 8、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 9、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。

有效期: 6个月。低温运输, 4℃保存。