**甘油三脂(TG)含量测定试剂盒说明书（货号：PYB2045,规格:96T）**

甘油激酶

脂肪酶

1. **实验原理：**甘油三酯+H2O 甘油+脂肪酸，甘油+ATP 甘油 -3-磷酸+ADP

3-磷酸甘油氧化酶

甘油-3-磷酸+O2 磷酸羟基丙酮+H~~2~~O2，

过氧化物酶

H2O2+4-AAP+对氯酚 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。

1. **试剂组份**：

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **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 | ATP |
| 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 |

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。

 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， r2＞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△A 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。

三、**使用步骤：**

 **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/LpH7.4)**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：

1. 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/LpH7**～**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。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。 |

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。

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。