

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K205-S

产品规格: 50 Assays(46 samples)/100 Assays(96 samples)

检测仪器: 紫外-可见光分光光度计(546 nm)

Elabscience® 低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)比色法测 试盒(双试剂直接法)

Low-Density Lipoprotein Cholesterol (LDL-C) Colorimetric Assay Kit (Double Reagents)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)和动物组织样本中低密度脂蛋白胆固醇的含量。

检测原理

高密度脂蛋白(High density lipoprotein, HDL)、乳糜微粒(Chylomicron, CM)和极低密度脂蛋白(Very low density lipoprotein, VLDL)等脂蛋白(除低密度脂蛋白-Low density lipoprotein, LDL)首先在在表面活性剂作用下改变结构并解离, 所释放出来的微粒化胆固醇分子与胆固醇酶试剂反应, 产生的过氧化氢在缺乏偶联剂时被消耗而不显色。此时 LDL 颗粒仍是完整的, 再加入含有偶联剂的试剂, 它可使 LDL 颗粒解离释放胆固醇。胆固醇在胆固醇酯酶(CE)、胆固醇氧化酶(CO)催化下, 产生过氧化氢。过氧化氢在 4-氨基安替吡啉(4-AA)和酚(TOOS)存在时, 经过氧化物酶(peroxidase, POD)催化, 反应生成苯醌亚胺非那踪的红色醌类化合物, 其颜色深浅与 LDL-C 含量成正比。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	反应液 (Reaction Solution)	45 mL×1 瓶	45mL×2 瓶	2-8°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	工作液 (Working Solution)	14 mL×1 瓶	28 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	标准品 (Standard) (浓度见试剂三标签)	粉剂×2 支	粉剂×4 支	2-8°C 避光 保存 6 个月

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：紫外-可见分光光度计（546 nm）、涡旋混匀仪

试剂：生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 mol/L, pH 7.4）、异丙醇（AR）

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25°C。

② 标准品溶液的配制：

取200 μ L双蒸水加入到试剂三中，混匀，即为标准品溶液，未使用的试剂2-8°C避光可保存2周。

样本准备

① 样本处理

血清（浆）：直接检测。

组织样本：按照组织质量（g）：异丙醇（AR）体积（mL）=1：9进行匀浆，4℃，10000×g离心10 min，收集上清，置于冰上待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.061-12 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	人血浆	不稀释
小鼠血清	不稀释	小鼠血浆	不稀释
大鼠血清	不稀释	大鼠血浆	不稀释
猪血清	不稀释	兔血清	不稀释
马血清	不稀释	10%小鼠肺组织	不稀释
10%小鼠肾组织	不稀释	10%小鼠肝组织	不稀释

注：血清（浆）稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 mol/L，pH 7.4）；动物组织稀释液为异丙醇（AR）。

操作步骤

- ① 所有试剂放至 25℃ 恒温箱提前孵育 15 min。
- ② 空白管：取 20 μL 双蒸水，加入到相应的 EP 管中。
标准管：取 20 μL 标准品溶液，加入到相应的 EP 管中。
测定管：取 20 μL 待测样本，加入到相应的 EP 管中。
- ③ 向步骤②中各管加入 720 μL 试剂一。
- ④ 涡旋混匀，37℃ 避光孵育 5 min，使用 1mL, 1cm 光径比色皿，双蒸水调零，于波长 546 nm 处测定各管吸光度值 A_1 。
- ⑤ 向步骤④中各管加入 240 μL 试剂二。
- ⑥ 涡旋混匀，37℃ 避光孵育 5 min，使用 1mL, 1cm 光径比色皿，双蒸水调零，于波长 546 nm 处测定各管吸光度值 A_2 。

操作表

	空白管	标准管	测定管
双蒸水(μL)	20	--	--
标准品溶液(μL)	--	20	--
待测样本(μL)	--	--	20
试剂一(μL)	720	720	720
涡旋混匀，37℃ 避光孵育 5 min，使用 1mL, 1cm 光径比色皿，双蒸水调零，于波长 546 nm 处测定各管吸光度值 A_1 。			
试剂二(μL)	240	240	240
涡旋混匀，37℃ 避光孵育 5 min，使用 1mL, 1cm 光径比色皿，双蒸水调零，于波长 546 nm 处测定各管吸光度值 A_2 。			

结果计算

血清(浆)中低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量的计算公式:

$$\text{LDL-C 含量} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \times c \times f$$

(mmol/L)

组织中低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量的计算公式:

$$\text{LDL-C 含量} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \times c \times f \div \frac{m}{V}$$

(mmol/kg wet weight)

注解:

$\Delta A_{\text{测定}}$: 测定管 ΔA 值-空白 ΔA 值, $\Delta A = A_2 - A_1$

$\Delta A_{\text{标准}}$: 标准管 ΔA 值-空白 ΔA 值, $\Delta A = A_2 - A_1$

c: 标准品的浓度, 其浓度见试剂三标签, mmol/L

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

m: 组织样本质量, g

V: 匀浆液的体积, mL

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.061-12 mmol/L	批间差	3.2-7.3%
灵敏度	0.061 mmol/L	批内差	1.1-4.8%

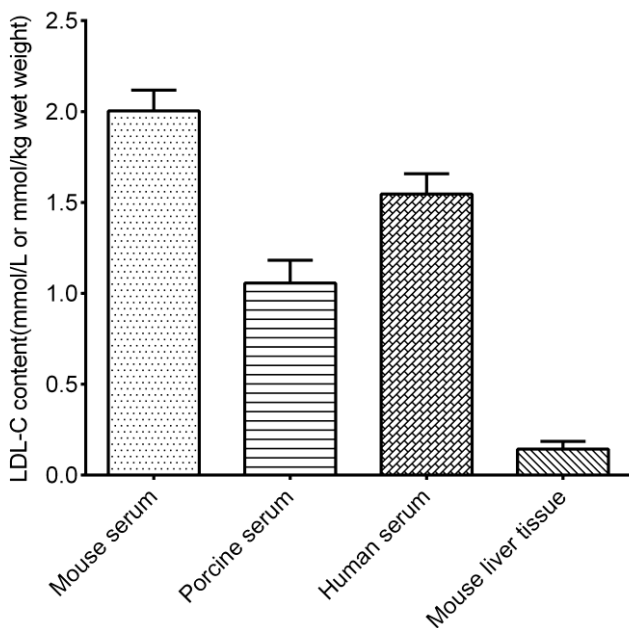
附录2 实例分析

例如检测人血清(数据仅供参考):

取20 μL 人血清,按操作表操作,结果如下:空白管 A_1 为0.009, A_2 为0.013, $\Delta A_{\text{空白}} = 0.013 - 0.009 = 0.004$, 标准管 A_1 为0.087(标准品浓度为2.3 mmol/L), A_2 为0.351, $\Delta A_{\text{标准}} = 0.351 - 0.087 = 0.264$, 测定管 A_1 为0.050, A_2 为0.229, $\Delta A_{\text{测定}} = 0.229 - 0.050 = 0.179$, 计算结果为:

$$\text{LDL-C}(\text{mmol/L}) = (0.179 - 0.004) \div (0.264 - 0.004) \times 2.3 = 1.55 \text{ mmol/L}$$

按说明书操作,测定小鼠血清(加样量 20 μL)、猪血清(加样量 20 μL)、人血清(加样量 20 μL)、小鼠肝组织(加样量 20 μL)中的 LDL-C 含量(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

