

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: GBQ141

产品规格: 96T(92 samples)

检测仪器: 酶标仪(530-570 nm)

Elabscience®低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)比色法测 试剂盒(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。

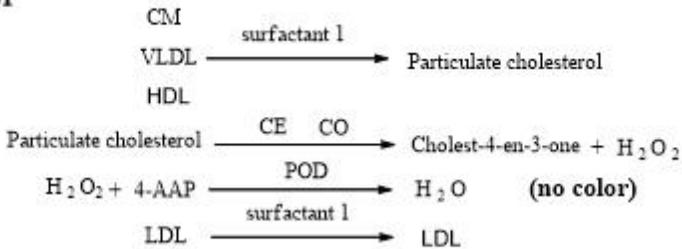
用途

本试剂盒适用于检测血清（浆），组织及细胞样本中低密度脂蛋白胆固醇的含量。

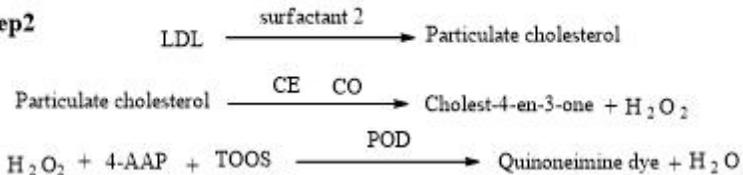
检测原理

HDL、CM 和 VLDL 等脂蛋白（除 LDL）首先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(T-OOS)存在时，经过氧化物酶 (POD) 催化，反应生成苯醌亚胺非那踪的红色醌类化合物，因其他脂蛋白的胆固醇分子已除去，色泽深浅与 LDL-C 量呈比例。主要反应式如下。

Step1



Step2



提供试剂和物品

编号	名称	规格(Size) (96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	酶工作液 1 (Enzyme Working Solution 1)	18 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶工作液 2 (Enzyme Working Solution 2)	6 mL×1 瓶	2-8℃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×1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

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：酶标仪（530 -570 nm，最佳波长 546 nm）

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）、异丙醇（AR）。

试剂准备

- ① 检测前，试剂盒中的试剂三平衡至室温，试剂一、试剂二取实验所需用量于25℃下孵育15 min，剩余试剂2-8℃保存。
- ② 试剂三工作液配制：

取200 μL的双蒸水加入到试剂三中，混匀，即为试剂三工作液，2-8℃避光可保存2周。

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：可直接测定。

组织或细胞样本：匀浆介质是异丙醇，匀浆离心后取上清进行测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3例预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，不同样本的稀释如下表（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%小鼠肾	不稀释
人血浆	不稀释	10%大鼠肝	不稀释
小鼠血清	不稀释	HepG2 细胞	不稀释
猪血清	不稀释	大鼠血浆	不稀释

注：血清（浆）稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)或 PBS(0.01 M, pH 7.4)；动物组织或细胞样本的稀释液为异丙醇。

实验关键点

- ① 标准品和样本的加入要触板底加液。
- ② 测定 OD 值时，酶标板孔中不能有气泡。

操作步骤

- ① 空白孔：取 5 μL 双蒸水，加入酶标板对应孔中；
标准孔：取 5 μL 试剂三工作液，加入酶标板对应孔中；
样本孔：取 5 μL 待测样本，加入酶标板对应孔中。
- ② 向步骤①中的各孔加入 180 μL 试剂一。
- ③ 混匀，37°C 孵育 5 min，
- ④ 酶标仪 546 nm 波长，测定各孔 OD 值，记录为 A_1
- ⑤ 向步骤④中的各孔加入 60 μL 试剂二
- ⑥ 混匀，37°C 孵育 5 min，
- ⑦ 酶标仪 546 nm 波长，测定各孔 OD 值，记录为 A_2 。

操作表

	空白孔	标准孔	测定孔
双蒸水 (μL)	5	--	--
试剂三工作液 (μL)	--	5	--
待测样本 (μL)	--	--	5
试剂一 (μL)	180	180	180
混匀，37°C 孵育 5 min，酶标仪 546 nm 波长，测定各孔 OD 值，记录为 A_1 。			
试剂二 (μL)	60	60	60
混匀，37°C 孵育 5 min，酶标仪 546 nm 波长，测定各孔 OD 值，记录为 A_2			

结果计算

血清（浆）低密度脂蛋白胆固醇含量的计算公式：

$$\text{LDL-C 含量 (mmol/L)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \times c \times f$$

组织低密度脂蛋白胆固醇含量的计算公式：

$$\text{LDL-C 含量 (mmol/kg wet weight)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \times c \times f \div \frac{m}{V}$$

细胞低密度脂蛋白胆固醇含量的计算公式：

$$\text{LDL-C 含量 (\mu mol/10}^6\text{ 个细胞)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \times c \times f \div \frac{N}{V}$$

注解：

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

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

c：标准品的浓度，其浓度见试剂三标签

f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

m：组织样本质量 (g)

V：异丙醇的体积 (mL)

N：细胞个数 (N 个 10^6)

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.04-12 mmol/L	平均批间差	10 %
灵敏度	0.04 mmol/L	平均批内差	5.5 %

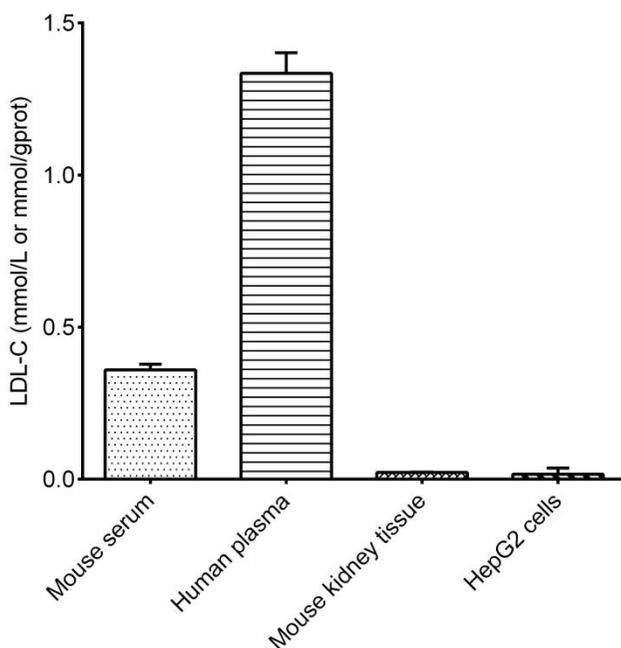
附录2 实例分析

例如检测小鼠血清(数据仅供参考):

取5 μL 的小鼠血清,按操作表操作,结果如下:空白孔平均 A_1 值为0.043,空白孔平均 A_2 值为0.071,标准孔平均 A_1 值0.061,标准孔平均 A_2 值0.394,测定孔平均 A_1 值为0.052,测定孔平均 A_2 值为0.120,计算结果为:

$$\text{LDL-C 含量} = \frac{(0.120-0.052) - (0.071-0.043)}{(0.394-0.061) - (0.071-0.043)} \times 2.75 \text{ mmol/L} = 0.36 \text{ mmol/L}$$

按照操作过程,测定小鼠血清(加样量5 μL)、人血浆(加样量5 μL)、小鼠肾组织(加样量5 μL)及HepG2细胞(加样量5 μL)中的LDL-C含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测
样本测量结果>12 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数,重新检测

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。