

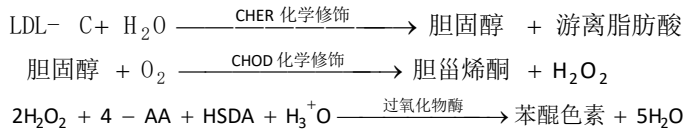
低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测试盒

(货号: BC028 微板法)

一、试剂组成及配制(96T):

试剂组成	规格	保存条件
试剂一	18mL×1 瓶	2~8℃ 避光保存
试剂二	6mL×1 瓶	
校准品	1 支(浓度及配置方法见标签)	
附送 96 孔平底酶标板一块		室温放置

二、测定原理:



三、测定步骤:

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/分钟, 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]: 1、如组织样本为非高脂样本, 匀浆介质统一用磷酸盐缓冲液(0.1mol/L pH 7.4)或生理盐水进行提取。
2、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]: 一般建议细胞密度在 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:

96 孔板操作, 酶标仪比色			
	空白孔	校准孔	样本孔
蒸馏水 (μL)	2.5		
校准品 (μL)		2.5	
样本 (μL)			2.5
试剂一 (μL)	180	180	180
轻轻振荡孔板混匀, 37℃ 孵育 5 分钟, 波长 550nm, 酶标仪测定各孔吸光度值 A1			
试剂二 (μL)	60	60	60
轻轻振荡混匀, 37℃ 孵育 10 分钟, 波长 550nm, 酶标仪测定各孔吸光度值 A2, 计算 ΔA=A2-A1。			

四、计算公式及举例:

1、血清等液体样本计算公式:

酶标仪操作:

地址: 武汉市东湖新技术开发区高科园二路盛齐安生物产业园 4 号楼

$$\text{LDLC含量 (mmol/L)} = \frac{\Delta A_{\text{样本}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{校准品}}$$

全自动生化分析仪操作:

$$\text{LDLC含量 (mmol/L)} = \frac{\Delta A_{\text{样本}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \times C_{\text{校准品}}$$

$C_{\text{校准品}}$:标准品浓度,mmol/L。

- a、取正常人血浆2.5 μ L,按酶标仪操作表操作,得空白孔 A_1 为0.052,空白孔 A_2 为0.055,校准孔 A_1 为0.081,校准孔吸光度 A_2 为0.318,样本孔 A_1 为0.070,样本孔 A_2 为0.158,则计算如下:

$$\begin{aligned} \text{LDLC含量 (mmol/L)} &= \frac{0.088 - 0.003}{0.237 - 0.003} \times 4.43 \\ &= 1.61 \text{ mmol/L} \end{aligned}$$

- b、取大鼠血清2.5 μ L,按操作表操作,得空白孔 A_1 为0.052,空白孔 A_2 为0.055,校准孔 A_1 为0.081,校准孔吸光度 A_2 为0.318,样本孔吸光度 A_1 为0.067,样本孔吸光度 A_2 为0.133,则计算如下:

$$\begin{aligned} \text{LDLC含量 (mmol/L)} &= \frac{0.066 - 0.003}{0.237 - 0.003} \times 4.43 \\ &= 1.19 \text{ mmol/L} \end{aligned}$$

2、组织、细胞样本计算公式:(组织样本不建议使用生化仪测定)

- 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):

酶标仪比色:

$$\text{LDLC含量 (mmol/gprot)} = \frac{\Delta A_{\text{样本}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{校准品}} \div \text{Cpr}$$

Cpr :匀浆液蛋白浓度,gprot/L(prot指蛋白)。

- 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):

酶标仪操作:

$$\text{LDLC含量 (mmol/g组织)} = \frac{\Delta A_{\text{样本}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{校准品}} \div \frac{W}{V_{\text{样总}}}$$

W :样本质量(g);

$V_{\text{样总}}$:匀浆液总体积(L)。

注:细胞样本测定时可得上式中的 $\frac{W}{V_{\text{样总}}}$ 替换为细胞前处理时的细胞密度。

- a、取10%小鼠肝匀浆2.5 μ L,按操作表操作,得空白孔 A_1 为0.052,空白孔 A_2 为0.055,校准孔 A_1 为0.081,校准孔吸光度 A_2 为0.318,样本孔吸光度 A_1 为0.125,样本孔吸光度 A_2 为0.148,同时测得10%小鼠肝匀浆蛋白浓度为18.1133gprot/L,计算如下:

$$\begin{aligned} \text{LDLC含量 (mmol/gprot)} &= \frac{0.023 - 0.003}{0.237 - 0.003} \times 4.43 \div 18.1133 \\ &= 0.0210 \text{ mmol/gprot} = 21.0 \mu\text{mol/gprot} \end{aligned}$$

五、性能指标:

- 1、试剂空白 $\Delta A \leq 0.050$ (光径 1cm)。
- 2、灵敏度:测试 2.6mmol/L 被测物时,吸光度差值 ΔA 为 0.180 ~ 0.280
- 3、线性范围:0.61 ~ 18.0mmol/L, $r^2 > 0.995$
- 4、精密性:变异系数 $\leq 8\%$,批间差:相对偏差 $\leq 10\%$
- 5、稳定性:原包装试剂盒在 2 $^{\circ}\text{C}$ ~ 8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存,有效期为 12 个月。开启后 2 $^{\circ}\text{C}$ ~ 8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存,可稳定一个月。

六、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;如样品含量较低也可以适当加大进样量(如 5 或 10 μ L),同时要将标准品稀释相应的倍数后和样本保持相同的加样量,试剂一、二量不变。

- 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，按比例增减。
- 5、举例采用标准品为不同批次，浓度不同。

七、参考文献：

- 1、H. Wieland and D. Seidel, J.Lipid Res. 24, 904(1983).
- 2、G. Assmann, Internist 20,559(1979).

八、参考值：

- 大鼠血浆：1.76±0.46mmol/L
小鼠血浆：1.08±0.84 mmol/L
小鼠肝（生理盐水）匀浆：24.56±5.4μmol/gprot
绵羊血清：0.91±0.36 mmol/L
鱼血浆：1.26±0.42 mmol/L
鱼肝（生理盐水）匀浆：22.75±6.18μmol/gprot
虾血清：0.11±0.03 mmol/L
蟹血清：0.31±0.13 mmol/L

注：以上值仅供参考，并无临床学意义。