上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量测定试剂盒（微板法）

产品简介：

胆固醇酯酶(CHER)和胆固醇氧化酶(CHOD)经化学修饰后，与葡萄糖硫酸钠、硫化环状糊精复合物并用，使对 LDL、VLDL、乳糜微粒的酶反应性降低，只选择性与 LDL-胆固醇发生作用。基于此原理，可以直接测定 LDL-胆固醇。

接着利用酯酶催化胆固醇酯水解生成游离胆固醇（FC），FC 在胆固醇氧化酶作用下被氧化生成 4-胆甾烯酮和 H2O2；接着与 4-氨基氨替吡啉等反应生成红色醌类化合物，其在 546nm 处有特征吸收峰，通过检测 546nm 处吸光值即可得出 LDL-C 含量。

产品组成：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 18mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	2-8℃保存	
标准品	液体 0. 1mL×1 支	2-8℃保存	标准品浓度为 3mmol/L。

使用方法：

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费。

一、样本准备：

1. 组织样本准备：

(a) 称取约 0.1g 组织，加入 1mL 无水乙醇，进行冰浴匀浆；

(b) 12000rpm 4℃离心 10min 后取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：无水乙醇体积（mL）为 1：5~10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本准备：

(a) 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；

(b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 无水乙醇；超声波破碎细菌或细胞（冰浴，200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；

(c) 12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，按照每 $0.5\sim1\times10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本准备：

液体样本：澄清的液体样本直接测定，若浑浊则离心后取上清检测。

二、样品测定：

1. 酶标仪计预热 30min 以上，调节波长至 546nm，蒸馏水调零。

2. 所有试剂解冻至室温（25℃），在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	标准管（做一次）	空白管（做一次）
样本	2.5	-	-
标准品	-	2.5	-
蒸馏水	-	-	2.5
试剂一	180	180	180
混匀，37℃孵育 5min，于波长 546nm 处读取各管吸光值 A1。			
试剂二	60	60	60
混匀，37℃孵育 10min，于 546nm 处读取各管吸光值 A2。 △A=A2-A1。			

【注】1. 若测定管的 A2 值大于 1，则需将样本用乙醇进行稀释，稀释倍数 D 需代入公式重新计算。

2. 若△A 测定低于△A 空白，可增加加样体积 V1（如测定管的样本量和空白管的蒸馏水增至 5μL 或更多，则试剂一和二保持不变；标准品仍为 2.5μL，额外加 2.5μL 蒸馏水补齐）；或增加样本取样质量 W（如增至 0.2g 或更多），则改变的 V1 和 W 则代入公式重新计算。

三、含量计算

1、按样本质量计算：

LDL-C(μmol/g 重量)=(C 标准×V2)×(△A 测定-△A 空白)÷(△A 标准-△A 空白)÷(W×V1÷V)×D=3×(△A 测定-△A 空白)÷(△A 标准-△A 空白)÷W×D

2、按细胞/细菌数量计算：

LDL-C(nmol/10^4cell)=(C 标准×V2)×10^3×(△A 测定-△A 空白)÷(△A 标准-△A 空白)÷(500×V1÷V)×D=6×(△A 测定-△A 空白)÷(△A 标准-△A 空白)×D

3、液体中 LDL-C 含量计算：

LDL-C(mmol/L)=(C 标准×V2)×(△A 测定-△A 空白)÷(△A 标准-△A 空白)÷V1×D=3×(△A 测定-△A 空白)÷(△A 标准-△A 空白)×D

C 标准---3mmol/L=3μmol/mL

V1---样本加入体积，0.0025mL

V2---标准品加入体积，0.0025mL

V---提取液体积，1mL

D---稀释倍数，未稀释即为 1

2---血清前处理中的稀释倍数

500---细胞数量，万

W---样本取样质量，g

注意事项：

1、 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

2、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

2-8℃保存，六个月有效。