

低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测试盒说明书

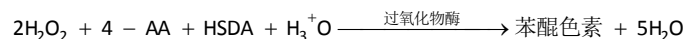
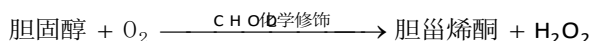
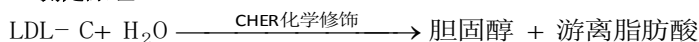
(货号:A113-1-1 微板法 96T)

免责声明: 测试前请仔细阅读说明书, 预试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担!

一、试剂组成及配制:

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 pH7.4)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:

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

$C_{\text{校准品}}$: 标准品浓度, mmol/L。

2、组织、细胞样本计算公式:

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

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℃~8℃ 避光保存, 有效期为 12 个月。开启后 2℃~8℃ 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 10μL), 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仪器要求, 按比例增减。

5、标准品不同批次浓度可能不同。

6、若是样本浑浊, 可在读 A1 和 A2 的基础上, 分别再读 700nm 下的 OD 值, 用 550nm 测得的 OD 值减去 700nm 下的 OD 值后, 再计算 ΔA 。

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。