血液低密度脂蛋白极低密度脂蛋白-胆固醇（LDLVLDL-C）酶法测定试剂盒

产品货号：BA2486

产品规格：250次

产品描述：

血浆中的脂质以脂蛋白-胆固醇-甘油三酯复合物形式存在。高密度脂蛋白HDL主要在肝脏和小肠生成，其主要功能是将肝外组织的胆固醇通过血液运回肝脏，转化为胆汁酸或直接通过胆汁从肠道排出体外，具有抗动脉粥样硬化作用。临床常规血脂检验四项包括：总胆固醇(total cholesterol，TC)、低密度脂蛋白-胆固醇 (low density lipoprotein-cholesterol，LDL-C) 和高密度脂蛋白-胆固醇 (high density lipoprotein-cholesterol，HDL-C)、甘油三酯(triglyceride，TG)。LDL/VLDL-C的测定需要预先分离不同密度的脂蛋白复合物，再测定其中的胆固醇含量。试剂盒采用世界卫生组织(WHO)、美国FDA、中国《全国临床检验操作规程》推荐的LDL/VLDL-C复合物相分离原理方法和氧化酶法胆固醇测定方法，操作简便，灵敏度高，检测范围20~5000umol/L，重复性佳。

反应原理：产品基于CHOD-PAP终点法结合经典GPO Trinder酶学反应 ：(1) 胆固醇酯酶分解胆固醇酯为游离胆固醇。(2) 胆固醇氧化酶将游离胆固醇氧化。(3) 反应过程产生过氧化氢。(4) 在过氧化物酶催化下生色底物转化为苯醌亚胺，光密度值与胆固醇浓度成正比。

适用范围：测定各类动物血清、血浆中的低密度/极低密度脂蛋白胆固醇（LDL/VLDL-C）含量。

产品组成：

产品组分	250次	保存条件
LDL/VLDL-C 捕获剂	13ml	2-8℃
R1 试剂	40ml	2-8℃，避光
R2 试剂	10ml	2-8℃，避光
胆固醇标准品粉末	1管	2-8℃

所需设备：

酶标仪或721、722型可见光分光光度计。最佳工作波长550nm，如无此波长建议优先选用570nm，次选530、490nm。

自备试剂：

无水乙醇（浓度≥99.5%）

操作步骤：

注意：实验中用到的枪头、EP管、试剂瓶等需保持干净，建议灭菌后使用，以防污染。

一、样本准备：

1. 可使用人和动物的自然凝固后血清用于后续测定；
2. 非抗凝血4ºC放置2小时得到血清后用于后续测定；
3. 如果样本为抗凝血浆，请使用EDTA或枸橼酸钠抗凝，参照相关制备方法；
4. 新鲜血液4ºC 2000g离心5min得到血浆，用于后续测定，新鲜制备血液样品测定效果佳，可4ºC存放数天测定或-20ºC不超过半年。

扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
电话：400-611-0007 13671551480
Q Q：807961520
邮箱：saintbio@126.com
http://www.saint-bio.com

注意：

1. 因肝素可释放脂蛋白脂肪酶活性而影响血浆甘油三酯和胆固醇酯水解，不建议使用肝素抗凝血浆。
2. 样本切勿长期冻存，因为冻存下生物分子亦必将自然降解导致结果不准。
3. 如测定结果超过线性范围用生理盐水1:1~1:5稀释样品后测定。

二、LDL/VLDL-C的相分离(phase separation)：

1. 取50ul血清或血浆(样品体积范围20-100ul)，加等体积50ul LDL/VLDL-C捕获剂，振荡混匀。
2. 室温（20-25°C）孵育10-30分钟。注意：室温或4ºC不影响结果，但每次条件要一致。
3. 2000g离心20分钟。离心温度4～22度均可，不同样品离心条件要一致。
4. 小心吸除上清，沉淀含有LDL/VLDL-C。再次2000g离心10分钟，弃尽上清。
5. 加入100ul 0.01MPBS 或生理盐水（初始血浆样品的2倍体积），振荡重悬沉淀，制备混悬液。
   注意后续计算时，按稀释倍数还原。

三、LDL/VLDL-C含量测定：

1. 标准品溶解和稀释：初次使用前，请将未开盖的标准品粉末12000rpm离心1min，加入0.5ml无水乙醇，充分涡旋，混合均匀，即为5mmol/L胆固醇标准品0.5ml，密封保存。将5mM胆固醇标准品用无水乙醇稀释为2500、1250、625、312.5、156.25、78.125、39.063umol/L。注意设置标准品0浓度管即空白管（蒸馏水+工作溶液），立即使用，用毕弃去。
2. 工作溶液配制：计算样本和标准品反应所需工作溶液体积，按R1:R2=4:1比例，取试剂混合均匀，得到游离胆固醇检测工作液，立即使用或4ºC保存<1天，变色弃去。
3. LDL/VLDL-C测定：使用干净透明的普通96孔板，参见下表加样，取190ul工作溶液，10ul上述制备的混悬液，标准品管加样量也是10ul，反应总体系为200ul。允许稍微增加或减少样品的加入量，并同时调整工作液体积，样本或标准品体积可调整范围5-20ul。（注意：混悬液放置后如有絮状物不用特殊处理，不影响测定）

	空白管（ul）	标准品管（ul）	样品管（ul）
蒸馏水	10		
标准品		10	
待测样品			10
工作液	190	190	190

4. 各孔内液体混合均匀后，37ºC水浴或金属浴反应20min，反应完成降至室温（约2-3min）。
5. 550nm，上机测定，先用蒸馏水+工作溶液的空白管调零，然后测定各标准品管和样本管OD值。
6. 绘制标准曲线并计算浓度：
   Excel作图步骤：各标准品管OD值为y轴，标准品浓度为x轴。
   (1) 鼠标左键圈住数据，点击做图向导，选择-散点图-，点击-完成-。
   (2) 鼠标右键点图上的某一点，点击-添加趋势线-，点击-选项-，点击-显示公式-和-R2 值-。

产品说明：

1. 维生素C>0.18g/L、血红蛋白>2g/L、胆红素>0.25g/L、强还原剂二硫苏糖醇、巯基乙醇等会干扰测定。
2. 尽量使用新鲜样本，建议样品4ºC保存时间应短于24小时，-80ºC保存也应不超过1个月。
3. 本产品仅用于科学研究，不得用于临床诊断或治疗。

有效期：

12个月有效。

扫一扫 加微信
上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
电话：400-611-0007 13671551480
Q Q：807961520
邮箱：saintbio@126.com
http://www.saint-bio.com