

用型低密度脂蛋白胆固醇（LDL-Cholesterol）均相法酶连续循环比色法 定量检测试剂盒产品说明书

主要用途

通用型低密度脂蛋白胆固醇（LDL-Cholesterol）均相法酶连续循环比色法定量检测试剂是一种旨在使用特定活性剂的情况下，通过胆固醇酯酶、胆固醇氧化酶和过氧化酶的酶连续反应系统中产生的过氧化氢（ H_2O_2 ），与氨基安替比林反应，生成粉红色的醌亚胺后吸光峰值的变化，即采用比色法来测定样品中低密度脂蛋白胆固醇浓度的权威而经典的技术方法。该技术经过精心改良第三代均相（homogenous）直接检测技术、成功实验证明的。其适用于各种细胞、组织、血液、体液（动物、人体等）样品中低密度脂蛋白胆固醇的浓度检测。产品严格无菌，即到即用，操作简捷，性能稳定，检测敏感。

技术背景

胆固醇(cholesterol)是一类称之为固醇类(sterols)或聚类异戊二烯(polyisoprenoid)或三萜皂甙元(triterpene)的多环化合物(polycyclic compound)。其分子式为cholest-5-en-3 β -ol。胆固醇以游离(free form)和酯化结合(ester)两种形式广泛存在于所有动物体内，主要以游离形式循环于血液中，以脂化形式转运和贮存。其中脂蛋白在体内血液循环系统起着携带、转运和储存胆固醇的重要功能。根据与不同脂蛋白的结合，定义胆固醇为好(good)和坏(bad)胆固醇。脂蛋白分成五种类型：乳糜粒脂蛋白(Chylomicrons)、极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein; VLDL)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein; LDL)、中介密度脂蛋白(intermediate density lipoprotein; IDL)、和高密度脂蛋白(high density lipoprotein; HDL)。其中低密度脂蛋白由异源性和多分散性(polydisperse)颗粒组成，水化比重为1.006至1.063，是体内含量最多的胆固醇脂蛋白组分，主要功能在于在血液循环中转运70%脂类物质(例如甘油三酯)，或从周边细胞转运胆固醇到肝脏。一旦含量增加，其患有动脉粥样硬化、冠状动脉疾病的风险增加，并可以用于预测心脏疾病的发生。基于干扰性乳糜粒脂蛋白、极低密度脂蛋白、高密度脂蛋白酯化胆固醇(cholesterol ester)等受到特定表面活性剂Emulgen溶解，由胆固醇酯酶(cholesterol esterase)水解，转化为游离胆固醇，进一步由胆固醇氧化酶(cholesterol oxidase)氧化产生过氧化氢(H_2O_2)，最后在过氧化氢酶(catalase)的催化下，得到去除(步骤一)。进而剩下的完整低密度脂蛋白胆固醇经过特定去垢剂处理释放，继续与胆固醇酯酶和胆固醇氧化酶反应，在过氧化酶(oxidase)的催化下，过氧化氢与氨基安替比林(4-amino-antipyrine; AAP)反应，生成粉红色的醌亚胺(quinoneimine)后吸光峰值的变化(波长500nm)，来定量测定低密度脂蛋白胆固醇的浓度(步骤二)。其酶连续反应系统为：

步骤一

步骤二

产品内容

缓冲液 (Reagent A)	毫升
反应液 A (Reagent B)	毫升
反应液 B (Reagent C)	毫升
标准液 (Reagent D)	微升
产品说明书	1 份

保存方式

保存在-20℃冰箱里，反应液 B (Reagent C) 和标准液 (Reagent D) 避免光照，有效保证 6 月

用户自备

恒温水槽或培养箱：用于孵育反应

200 微升 1 厘米光径比色皿或 96 孔板：用于反应和比色分析的容器

分光光度仪或酶标仪：用于比色分析

实验步骤

实验开始前，将-20℃冰箱里的试剂置入冰槽里融化。然后进行下列操作。

一、测定准备

1. 准备好待测样品，置于冰槽里备用
2. 设定好酶标仪（温度为 37℃）：波长 500nm
3. 准备好 5 个 1.5 毫升离心管，标记为 1 至 5 号管

二、标准样品测定

1. 在 96 孔板上做好相应标记
2. 移取 xx 微升**缓冲液 (Reagent A)** 到相应孔里
3. 加入 xx 微升**标准液 (Reagent D)**
4. 加入 xx 微升**反应液 B (Reagent C)**
5. 轻轻摇动 96 孔板 30 秒
6. 即刻放进酶标仪检测：获得初始吸光读数 (OD)
7. 在 37℃ 温度下孵育 2.5 分钟，避免光照
8. 即刻放进酶标仪检测：获得终点吸光读数 (OD)
9. 获得实际吸光读数：终点吸光读数 (OD) - 初始吸光读数 (OD)

三、样品测定

1. 在 96 孔板上做好相应标记：待测样品
2. 移取 xx 微升**缓冲液 (Reagent A)** 到相应孔里
3. 加入 5 微升待测样品
4. 加入 xx 微升**反应液 A (Reagent B)**
5. 在 37℃ 温度下孵育 5 分钟
6. 加入 xx 微升**反应液 B (Reagent C)**
7. 轻轻摇动 96 孔板 30 秒
8. 即刻放进酶标仪检测：获得初始吸光读数 (OD)
9. 在 37℃ 温度下孵育 2.5 分钟，避免光照

10. 即刻放进酶标仪检测：获得终点吸光读数（OD）
11. 获得实际吸光读数：终点吸光读数（OD）－初始吸光读数（OD）
12. 计算样品浓度（毫克/分升）

13. 浓度换算方法：

注意事项

1. 本产品为 20 次操作，包括标准液
2. 本产品的检测范围为 1 至 400 毫克/分升
3. 本产品适宜于各种自动生化仪检测
4. 操作时，须戴手套
5. 建议样品保存在－70℃冰箱里，如果保存在 4℃冰箱里，其稳定性保持 1 周，－20℃保持 3 月
6. 系统操作过程中，标准液测定只需 1 次
7. 孵育反应完成后即刻进行比色测定
8. 样品比色检测可以使用分光光度仪和比色皿替代
9. 比色测定后，使用比色皿的，须清洗彻底
10. 如果用户没有匹配的滤波器，可以使用 480nm 至 520nm 之间的任一波长
11. 如果待测样品浓度过高或过低，可以调整样品浓度
12. 胆红素（大于 40 毫克/分升）血红蛋白（大于 500 毫克/分升）、甘油三酯（大于 1000 毫克/分升）、抗坏血酸（大于 50 毫克/分升）等会干扰检测
13. 正常血清低密度脂蛋白胆固醇的含量为小于或等于 130 毫克/分升（3.367 毫摩尔）；高于 160 毫克/分升（4.144 毫摩尔）则具有心血管疾病的风险
14. 本公司提供系列脂蛋白胆固醇检测试剂产品

质量标准

1. 本产品经鉴定性能稳定
2. 本产品经鉴定检测敏感