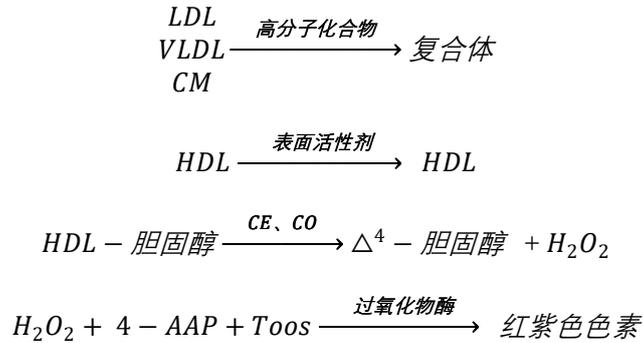


高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 检测试剂盒

(货号: BC029 微板法)

一、测定意义及原理



二、试剂组成及配制 (96T)

试剂组成	规格	组份	浓度	保存条件
试剂一	18mL*1 瓶	MES 缓冲液	50mmol/L	2~8℃ 避光保存
		抗坏血酸氧化酶	1 kU/L	
		叠氮钠	0.5g/L	
试剂二	6mL*1 瓶	启动试剂	1g/L	
		胆固醇酯酶	≥800U/L	
		胆固醇氧化酶	≥400U/L	
		过氧化物酶	≥5 kU/L	
		4-氨基安替比林	0.5mmol/L	
		叠氮钠	0.5 g/L	
标准品	粉剂*1 瓶	胆固醇	见标签	
		标准品配制: 按照标准品标签指示配制。		
附送 96 孔平底酶标板一块				室温放置

三、操作过程:

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/分钟，离心 10min，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%，裂解液 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	标准孔	样本孔
蒸馏水 (μL)	2.5		
标准品 (μL)		2.5	
样本 (μL)			2.5
试剂一 (μL)	180	180	180
轻轻震荡孔板混匀，37°C 孵育 5 分钟，波长 600nm，酶标仪测定各孔吸光度值 A1			
试剂二 (μL)	60	60	60
轻轻震荡孔板混匀，37°C 孵育 5 分钟，波长 600nm,酶 标仪测定各孔吸光度值 A2， 计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。			

四、计算公式及举例：

1、血清等液体样本计算公式：

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

C 标准品：标准品浓度，mmol/L

例 1：取正常人血浆 2.5μL,按操作表操作，得空白孔吸光度 A1 为 0.0361，空白孔吸光度 A2 为 0.0432， ΔA 空白 0.0061；校准孔吸光度 A1 为 0.0658，校准孔吸光度 A2 为 0.1297，则 ΔA 校准为 0.0639；样本孔吸光度 A1 为 0.0446，样本孔吸光度 A2 为 0.0920， ΔA 样品为 0.0474；则计算如下：

$$\text{HDLc 含量 (mmol/L)} = \frac{0.0474 - 0.0061}{0.0639 - 0.0061} \times 1.8 = 1.2771 \text{ mmol/L}$$

例 2：取大鼠血清 2.5μL, 按操作表操作，得空白孔吸光度 A1 为 0.0361，空白孔吸光度 A2 为 0.0432， ΔA 空白 0.0061；校准孔吸光度 A1 为 0.0658，校准孔吸光度 A2 为 0.1297，则 ΔA 校准为 0.0639；样本孔吸光度 A1 为 0.0426，样本孔吸光度 A2 为 0.0705， ΔA 样品为 0.0279；则计算如下：



$$\text{HDLC 含量 (mmol/L)} = \frac{0.0279-0.0061}{0.0639-0.0061} \times 1.8 = 0.6592 \text{ mmol/L}$$

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, 蛋白测定试剂盒货号: BC016)

$$\text{HDLC 含量 (mmol/gprot)} = \frac{\Delta A_{\text{样品}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准品}} \div C_{pr}$$

注:Cpr 为匀浆液蛋白浓度, 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):

$$\text{HDLC 含量 (mmol/g 组织)} = \frac{\Delta A_{\text{样品}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准品}} \div \frac{W}{V_{\text{乙醇}}}$$

W: 组织样本质量, g;

V 乙醇: 样本提取时加入的乙醇的总体积, L。

注: 细胞样本测定时可得上式中的 $\frac{W}{V_{\text{乙醇}}}$ 替换为细胞前处理时的细胞密度 (10⁴ 个/L)。

例 1: 取 10%小鼠肝匀浆 2.5μl, 按操作表操作, 得空白孔吸光度 A1 为 0.0361,空白孔吸光度 A2 为 0.0432,则ΔA 空白为 0.0061; 标准孔吸光度 A1 为 0.0658, 标准孔吸光度 A2 为 0.1297, 则ΔA 标准为 0.0639; 样本孔吸光度 A1 为 0.0993, 样本孔吸光度 A2 为 0.1181, 则ΔA 样本为 0.0188; 同时测得 10%小鼠肝匀浆蛋白浓度为 12.0121 gprot/L, 计算如下:

$$\text{HDLC 含量 (mmol/gprot)} = \frac{0.0188-0.0061}{0.0639-0.0061} \times 1.8 \div 12.0121=0.0309 \text{ mmol/gprot}$$

五、技术参数:

项目序号	指标名称	指标要求
1	试剂空白孔吸光度	≤0.10
2	灵敏度: 1.00 mmol/L	吸光度差值 0.04 ≤ ΔA
3	准确度	相对偏差 ≤ 10%
4	精密度	CV ≤ 3% 批件相对极差 ≤ 5%
5	线性范围 0~5.16 mmol/L	R ² ≥ 0.990
6	稳定性	原包装整体放置 4℃避光保存, 有效期 12 个月。开启后 4℃避光保存, 可稳定放置 1 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。
- 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、样本中 HDL-C 含量较低时，可以加大样本取样量（如取 10 ul 或 20ul，同时标准品需要稀释相应的倍数后和样本取样量一致）后测定。
- 6、标准品粉剂为冻干粉，溶解时间较长，配置时可提前半小时配制。

七、参考值：

大鼠血浆：0.45±0.16 mmol/L

小鼠血浆：0.92±0.11 mmol/L

鸡血浆：0.36±0.12 (某些种类的能达到 2.33±0.38) mmol/L

鱼血浆：0.99±0.22 mmol/L

小鼠肝脏：12.4±2.0 μmol/gprot

鱼肝脏：39.36±12.37 μmol/gprot

