

高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）含量检测试剂盒（微量法）

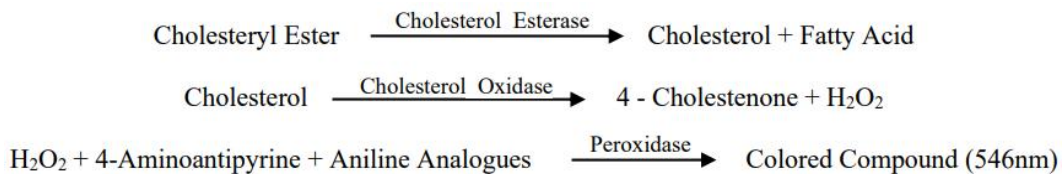
产品货号：BA2131

产品规格：100T/96S

产品简介：

高密度脂蛋白（High-Density Lipoprotein Cholesterol, HDL-C）是血清脂蛋白中密度最大、颗粒最小的脂蛋白，主要作用为将周围组织的胆固醇运送到肝脏进行降解。众多流行病学研究表明，HDL-C水平与动脉粥样硬化（AS）、冠心病（GHD）呈负相关，对于临床诊断动脉粥样硬化、冠心病、高血压等疾病有重要参考价值。

使用选择性沉淀剂将HDL-C特异性分离出来，利用酯酶催化胆固醇酯水解生成游离胆固醇（FC）和游离脂肪酸（FFA），从而把胆固醇酯转化为FC；进一步利用胆固醇氧化酶催化FC氧化，生成4-胆甾烯酮和H₂O₂；最后利用过氧化物酶催化H₂O₂氧化4-氨基安替比林和苯胺类似物，生成紫色化合物，其在546nm有特征吸收峰，其颜色深浅与HDL-C含量成正比。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	自备试剂	-
提取液二A	液体6mL×1瓶	2-8℃
提取液二B	液体6mL×1瓶	
试剂一	液体2mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体28mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体160μL×1支	2-8℃
试剂四	液体25μL×1支	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 提取液一：自备异丙醇，大约需要110mL，常温保存；试剂盒内提供一个30mL棕色空瓶，仅做分装使用，请自行标注试剂名称。
2. 提取液二：临用前根据样本量按提取液二A：提取液二B=50μL：50μL（约1T）的比例配制提取液二，当天用完。
3. 试剂四：液体置于试剂瓶内EP管中。
4. 标准品：10mg胆固醇，临用前加入517 μL提取液一，振荡溶解，即为50μmol/mL的胆固醇标准溶液。
5. 工作液的配制：根据样本量按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四=0.21mL：2.79mL：20 μL：3 μL（共 3.023mL，约16T）的比例配制工作液，现用现配。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、天平、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、可调式移液枪、冰、蒸馏水、异丙醇。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

操作步骤:

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按质量（g）：提取液体积（mL）1：5~10 比例加入提取液（建议称取 0.1g 样本，加入 1.0mL 提取液一）进行冰浴匀浆。10000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。
2. 细菌/细胞：按照细菌/细胞数量（ 10^4 个）：提取液一（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液一），冰浴超声波破碎细胞（功率 300W，超声 2 秒，间隔 3 秒，总时间 3min）；然后 10000g，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。
3. 血清（浆）等液体样本：直接测定。若有沉淀请离心后取上清待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 546nm，分光光度计用蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释：将 50 μ mol/mL 胆固醇标准溶液用提取液一进行稀释得到 2.5、2、1.25、0.625、0.3125、0.15625 μ mol/mL 的标准溶液备用。
3. 标准溶液稀释可参考下表：

序号	稀释前浓度（ μ mol/mL）	标准溶液体积（ μ L）	提取液一体积（ μ L）	稀释后浓度（ μ mol/mL）
1	50	50	950	2.5
2	50	40	960	2
3	2	625	375	1.25
4	1.25	500	500	0.625
5	0.625	500	500	0.3125
6	0.3125	500	500	0.15625

4. 在 1.5mLEP 管按下表步骤加样：

试剂名称（ μ L）	测定管	标准管	空白管
样本	100	-	-
标准溶液	-	100	-
提取液二	100	100	-
充分混匀，常温静置 10min，3000rpm 常温离心 15min，取上清。			
上清液	20	20	-
试剂三	-	-	20
试剂四	180	180	180
充分混匀，37℃静置 1h，反应完成后测定 546nm 处吸光值 A，分别记为 A 测定、A 标准和 A 空白， ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 空白。空白管和标准曲线只需测 1-2 次。			

注：若样本为血清（浆）等液体样本，则需要增加‘血清（浆）空白管’-即将空白管中的提取液一（异丙醇）更换为蒸馏水进行实验，计算 ΔA 测定=A 测定-A 血清（浆）空白，标准管测定及 ΔA 标准计算不变。

三、高密度脂蛋白胆固醇含量计算

1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度（x， μ mol/mL）和吸光度 ΔA 标准（y， ΔA 标准），建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定（y， ΔA 测定）带入公式计算样本浓度（x， μ mol/mL）。

2. HDL-C 含量的计算：

- （1）按血清（浆）等液体体积计算：

$$\text{HDL-C 含量（}\mu\text{mol/dL）} = x \times 100$$

- （2）按样本蛋白浓度计算：

$$\text{HDL-C 含量（}\mu\text{mol/mg prot）} = x \times V_{\text{提取}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{提取}}) = x \div \text{Cpr}$$



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

(3) 按样本质量计算:

$$\text{HDL-C 含量} (\mu\text{mol/g 质量}) = x \times V \text{ 提取} \div W = x \div W$$

(4) 按细胞/细菌数量计算:

$$\text{HDL-C 含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = x \times V \text{ 提取} \div N = x \div N$$

100: 单位换算系数, 1dL=100mL; V 提取: 加入提取液一的体积, 1mL; W: 样本质量, g; N: 细菌或细胞 总数, 以万计。

注意事项:

1. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者用提取液一稀释样本后再进行测定。注意同步修改计算公式。
2. 提取液一中含有使蛋白变形的成分, 故按蛋白浓度计算时需要重新提取蛋白进行测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com