

High-Density Lipoprotein Cholesterol (HDL-C) Kit

高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C) 测定试剂盒说明书

货号:BN72229| 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

胆固醇酯酶(ChE)和胆固醇氧化酶(CHOD)经化学修饰后,与葡萄糖硫酸钠、硫化环状糊精复合物并用,使对 LDL、VLDL、乳糜微粒的酶反应性降低,只选择性与 HDL-胆固醇发生作用。

基于此原理,在第一步反应中使 LDL、VLDL、乳糜微粒与葡萄糖硫酸钠、硫化环状糊精复合物结合,在第二步反应中利用化学修饰的 ChE、CHOD,无须分离其他脂蛋白直接测定 HDL-胆固醇。即利用化学修饰的 ChE 催化胆固醇酯水解生成游离胆固醇(FC),FC 在 CHOD 作用下被氧化生成 4-胆甾烯酮和 H_2O_2 ;接着与 4-氨基氮替吡啶等反应生成红色醌类化合物,其在 546nm 处有特征吸收峰,通过检测 546nm 处吸光值即可得出 HDL-C 含量。

二、试剂盒的组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 27mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液 9mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	液体 0.1mL×1 支	4°C保存	标准品浓度为 1.19mmol/L。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、可调式移液枪、水浴锅、乙醇、离心机、研钵、蒸馏水。

四、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

称取约 0.1g 组织样本加入研钵中,加入 1mL 乙醇,进行冰浴匀浆,12000rpm, 4°C 或室温离心 10min,取上清液待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液(mL)为 1:5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 乙醇,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);12000rpm 4°C离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

③ 液体样本:澄清的液体样本直接测定,若浑浊则离心后取上清检测。

④ 血清样本:若是常规的澄清的血清样本,可直接按操作表加入试剂后检测;

若血清样本中含的蛋白含量较高，按操作表加入试剂后会产生浑浊现象，可先取 200μL 血清+200μL 乙醇，上下混匀几次，于 8000rpm，4℃或室温离心 5min，取上清液待测。

2、上机检测：

- ① 可见分光光度计预热 30 min，调节波长到 546nm，蒸馏水调零。
- ② 所有试剂解冻至室温（25℃），在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	标准管 （仅做一次）	空白管 （仅做一次）
样本	10		
标准品		10	
蒸馏水			10
试剂一	540	540	540
混匀，37℃孵育 5min，于波长 546nm 处读取各管吸光值 A1。			
试剂二	180	180	180
混匀，37℃孵育 10min，于 546nm 处读取各管吸光值 A2。ΔA=A2-A1。			

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按样本质量计算：

$$\text{HDL-C}(\mu\text{mol/g 重量}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D$$

$$= 1.19 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

2、按细胞数量计算：

$$\text{HDL-C}(\text{nmol}/10^4\text{cell}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times 10^3 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (500 \times V_1 \div V) \times D$$

$$= 2.38 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D$$

3、液体中 HDL-C 含量计算：

$$\text{HDL-C}(\text{mmol/L}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D$$

$$= 1.19 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D$$

4、血清中 HDL-C 含量计算：

$$\text{HDL-C}(\text{mmol/L}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V_1 \times 2 \times D$$

$$= 2.38 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D$$

C 标准---1.19mmol/L=1.19μmol/mL；

V1---样本加入体积，0.01mL；

V2---标准品加入体积，0.01mL；

V---提取液体积，1mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

2---血清前处理中的稀释倍数；

500---细胞数量，万；

W---样本取样质量，g。