

高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定试剂盒(双试剂直接法)

- 【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H₂O₂；接着与 4-氨基氨基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。

【货号】 TMC013

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
试剂一	液体18mL×1瓶	4℃	
试剂二	液体6mL×1瓶	4℃	
标准品	液体0.1mL×1支	4℃	浓度为1.19mmol/L

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

【操作步骤】 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℃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℃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(10⁶)：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200L血清+200uL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酶标仪预热30min,调节波长到546nm。

②所有试剂解冻至室温,在96孔板中依次加入:

试剂名称(uL)	测定管	空白管(仅做一次)	标准管(仅做一次)
样本	2.5		
蒸馏水		2.5	
标准品			2.5
试剂一	180	180	180
混匀, 37℃孵育5min, 于546nm 处读取吸光值 A1。			
试剂二	60	60	60
混匀, 37℃孵育10min后于546nm 处读取吸光值A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。			

3、结果计算:

①按样本质量计算:

$$\text{HDL-C}(\mu\text{mol/g重量}) = (\text{C标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} = 1.19 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div \text{W} \times \text{D}$$

②按细胞数量计算:

$$\text{HDL-C}(\text{nmol}/10^4\text{cell}) = (\text{C标准} \times \text{V2}) \times 10^3 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} = 2.38 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times \text{D}$$

③液体中LDL-C含量计算:

$$\text{HDL-C}(\text{mmol/L}) = (\text{C标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div \text{V1} \times \text{D} = 1.19 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times \text{D}$$

④血清中LDL-C含量计算:

$$\text{HDL-C}(\text{mmol/L}) = (\text{C标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div \text{V1} \times 2 \times \text{D} = 2.38 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times \text{D}$$

C标准---标品浓度, 1.19mmol/L=1.19 μmol/mL; V1---加入样本体积, 0.0025mL;

V2---加入标准品体积, 0.0025mL;

V---提取液体积, 1mL;

W---质量, g;

500---细胞数量, 万;

D---稀释倍数, 未稀释即为1。

2---血清前处理中的稀释倍数;

- 【注意事项】**
- 1、样本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。
 - 2、如果原本浑浊，可分别读 700nm 下的 OD 值，然后 546nm 的 OD 值减去 700nm 的 OD 值，再计算 ΔA
 - 3、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
 - 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
-