

## 高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测试盒说明书

(货号:A112-1-1 微板法 96T)

免责声明:测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验,否则由此导致的后果用户自行承担!

## 一、试剂组成及配制:

试剂组成	规格	保存条件
试剂一	18mL×1 瓶	2~8℃ 避光保存
试剂二	6mL×1 瓶	
校准品	1 支(浓度见标签)	
附送 96 孔透明平底酶标板一块		室温放置

## 二、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,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]: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;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,离心 10 分钟,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待测。也可采用裂解液裂解(推荐 TritonX-100, 1~2%,裂解 30~40 分钟),裂解好的液体不离心直接测定。[注]: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:

	空白孔	校准孔	样本孔
蒸馏水 (μL)	2.5		
校准品 (μL)		2.5	
样本 (μL)			2.5
试剂一 (μL)	180	180	180
轻轻震荡孔板混匀,37℃震荡孵育 5 分钟,波长 550nm,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℃震荡孵育 10 分钟,波长 550nm,酶标仪测定各孔吸光度值 A2,计算 $\Delta A=A2-A1$ 。			

## 三、计算公式及举例:

## 1、血清等液体样本计算公式:

$$\text{HDL-C 含量 (mmol/L)} = \frac{\Delta A_{\text{样本}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{校准}}$$

$C_{\text{标准}}$ :标准品浓度,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,蛋白测定试剂盒本所所有售,货号为 A045-2 或者 A045-4):

$$\text{HDL-C 含量 (mmol/g prot)} = \frac{\Delta A_{\text{样本}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{p1}}$$

注: $C_{\text{p1}}$ 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):

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

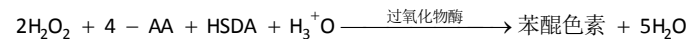
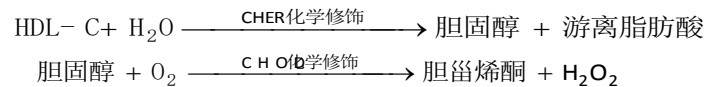
$W$ :组织样本质量, g;

$V_{\text{乙醇}}$ :样本提取时加入的乙醇的总体积, L。

注:细胞样本测定时可可将上式中的  $\frac{W}{V_{\text{乙醇}}}$  替换为细胞前处

理时的细胞密度 ( $10^4$  个/L)。

## 四、测定原理:



## 五、性能指标:

- 1、试剂空白孔吸光度  $\Delta A \leq 0.02$ 。
- 2、线性范围: 0.09~2.50mmol/L,  $R^2 > 0.990$ 。
- 3、灵敏度:测试 1.00mmol/L 被测物时,吸光度值  $\Delta A$  大于 0.04。
- 4、准确度:相对偏差  $\leq 10\%$ 。
- 5、精密性:  $CV \leq 3\%$ ,批间相对极差  $\leq 5\%$ 。
- 6、稳定性:原包装试剂盒在 2℃~8℃避光保存,有效期为 12 个月。开启后 2℃~8℃避光保存,可稳定一个月。

## 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 10μL 或 20μL,此时标准品需要稀释相应的倍数后和样本取样量一致,试剂一、二量不变)后测定。
- 6、若是样本浑浊,可在读 A1 和 A2 的基础上,分别再读 700nm 下的 OD 值,用 550nm 测得的 OD 值减去 700nm 下的 OD 值后,再计算  $\Delta A$ 。

## 七、参考文献:

- 1、National Institutes of Health Consensus Development



Confrence Statement:Triglyceride ,High Density Lipoprotein and Coronary Heart Disence. Washington D.C. Feb 26-28, 1992.

2、Sugiuchi, H. ,Uji,Y., Okabe, H. , Irie T. , Uekama, K. ,Kayahara, N; Clin Chem 1995; 1/5:717-723.

#### 八、参考值:

大鼠血浆:  $0.45 \pm 0.16$  mmol/L

小鼠血浆:  $0.92 \pm 0.11$  mmol/L

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

鱼血浆:  $0.99 \pm 0.22$  mmol/L

小鼠肝脏:  $12.4 \pm 3.9$   $\mu$ mol/gprot

鱼肝脏:  $39.36 \pm 12.37$   $\mu$ mol/gprot

注: 以上值仅供参考, 并无临床学意义。