

高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测试盒说明书

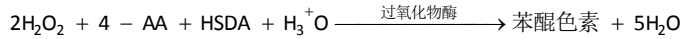
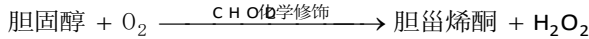
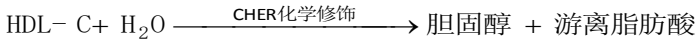
(货号:A112-2-1 分光光度计法 96样)

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	75mL×1瓶	2~8℃ 避光保存
试剂二	25mL×1瓶	
校准品	1支(浓度见标签)	

二、测定原理:



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,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:

普通试管操作,分光光度计比色			
	空白管	校准管	样本管
蒸馏水(μL)	10		
校准品(μL)		10	
样本(μL)			10
试剂一(μL)	750	750	750
混匀,37℃孵育5分钟,波长550nm,测定各管吸光度值A1			
试剂二(μL)	250	250	250
混匀,37℃孵育10分钟,波长550nm,测定各管吸光度值A2,计算ΔA=A2-A1。			

全自动生化分析仪上机操作			
样本/校准品/水	Sample Volume	μL	5
试剂一	Reagent 1	μL	360
37℃孵育5分钟,主波长550nm,副波长700nm,测定光吸收值A1			
试剂二	Reagent 2	μL	120
37℃孵育5-10分钟,主波长550nm,副波长700nm,测定光吸收值A2,计算ΔA=A2-A1。			
主波长	550nm	副波长	700nm
反应类型	两点终点法		
反应方向	上升		

四、计算公式及举例:

1、血清等液体样本计算公式:

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

$C_{\text{标准}}$:标准品浓度,mmol/L。

2、组织、细胞样本计算公式:(组织样本不建议使用生化仪测定)

- 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):

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

注: C_{pI} 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):

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

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)。

五、性能指标:

- 1、试剂空白管吸光度 $\Delta A \leq 0.02$ 。
- 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 ΔA 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 50 μ L 或 100 μ L，同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。

七、参考文献：

- 1、National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Triglyceride, High Density Lipoprotein and Coronary Heart Disease. 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 0.16mmol/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 μ mol/gprot
鱼肝脏：39.36 \pm 12.37 μ mol/gprot
注：以上值仅供参考，并无临床学意义。