

高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）含量检测试剂盒 （可见分光光度法）

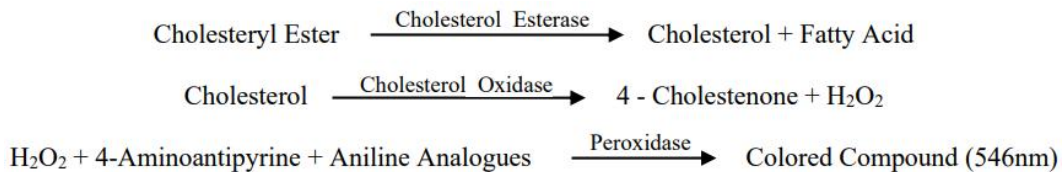
产品货号：BA2130

产品规格：50T/48S

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7.5mL×1瓶	2-8℃
提取液二B	液体7.5mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体5mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体70mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体0.45mL×1支	2-8℃
试剂四	液体0.07 mL×1瓶	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60mL，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=100μL：100μL（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517μL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=0.63mL：8.37mL：60μL：9μL（共9.069mL，约10T）的比例配制工作液，现用现配。



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

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、天平、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、1mL 玻璃比色皿、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。

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°C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): 提取液一体积 (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°C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. 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 546nm, 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、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078125 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	2	625	375	1.25
3	1.25	500	500	0.625
4	0.625	500	500	0.3125
5	0.3125	500	500	0.15625
6	0.15625	500	500	0.078125

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	200	-	-
标准溶液	-	200	-
提取液二	200	200	-
充分混匀, 常温静置 10min, 3000rpm 常温离心 15min, 取上清。			
上清液	100	100	-
试剂三	-	-	100
试剂四	900	900	900
充分混匀, 37°C 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:



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

(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:

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

(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