高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使用说明书

货号：JL-T2737　　**有 效 期：**6 个月

规格：48T(47S)/96T(95S)　　**保存温度：**2-8℃和-20℃

实验原理：

用沉淀剂分离样本中的高密度脂蛋白胆固醇，利用酯酶催化胆固醇酯水解生成游离胆固醇和游离脂肪酸，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$^{\Delta}$4-胆甾烯酮和 H_2O_2；再利用过氧化物酶催化 H_2O_2 氧化 4-氨基安替比林和酚，生成红色醌类化合物；在 500nm 有特征吸收峰。

检测范围：0.05-10mmol/L　　灵敏度：0.05mmol/L

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号和批号组分不得混用。
2. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
3. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
4. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成：

试剂名称	规格（48T/47S）	规格（96T/95S）	保存条件
试剂一	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃
试剂三	160μL×1 瓶	160μL×2 瓶	-20℃，避光
试剂四	12.5mL×1 瓶	25mL×1 瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃，避光

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、恒温箱、蒸馏水、实验级乙醇。

样本处理及要求：

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.05-10mmol/L，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为乙醇。

2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。

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。

4. **组织样本：**按照组织质量(g):乙醇体积(mL)为 1:5~10 的比例（例如约 0.1g 组织，加入 1mL 乙醇）进行匀浆，匀浆后，4℃，10000 g 离心 10min，取上清置冰上待测。

5. **细菌/细胞样本：**收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌/细胞数量（10^4）：乙醇（mL）为 500~1000：1 的比例(建议按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 乙醇)，超声波破碎细菌或细胞（功率 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），10000 g，离心 10min，取上清待测。

检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。

2. **试剂二配制**：临用前取一瓶加 7.5mL 试剂四充分溶解，配好后 2-8℃可保存 3 天。

3. **试剂三配制：**临用前取一瓶加 2.5mL 试剂四充分溶解，现配现用，当天使用完毕。

4. **标准品溶液配制：**取一瓶标准品加入 517μL 的乙醇充分混匀，即为标准品母液(10mmol/L)。取一新 EP 管加入 119μL 的标准品母液，再加入 881μL 的乙醇，即 1.19mmol/L 的标准品溶液，按需配制，现配现用。标准品未溶解时-20℃可保存 4 周。

操作步骤：

1. **酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 500nm。**

2. **样本测定（在 EP 管中依次加入）：**

试剂名称(μL)	标准管	测定管
样本		100
试剂一		100
混匀，室温静置 15min 后，4000 g 室温离心 15min，取上清，在 96 孔中加入以下试剂		
试剂二	150	150
试剂三	50	50
上清液		4
1.19mmol/L 标准品	4	
混匀，37℃孵育 30min，于 500nm 处测定各孔 OD 值。		

注意：

(1) 标准孔只需测定 1-2 次。

(2) 样本切勿反复冻融，最好在取血后 12 小时内完成测定。

实验结果结算：

1. 按样本质量计算：

HDL-C含量(μmol/g)=$A_{测定}$×2×($C_{标}$÷$A_{标准}$)×$V_{提}$÷W×N=2.38×$A_{测定}$÷$A_{标准}$÷W×N

2. 按液体体积计算：

HDL-C 含量(mmol/L)=$A_{测定}$×2×($C_{标}$÷$A_{标准}$)×N=2.38×$A_{测定}$÷$A_{标准}$×N

3. 按细菌或细胞密度计算：

HDL-C含量(nmol/10^4cell)=$A_{测定}$×2×10^3×($C_{标}$÷$A_{标准}$)×$V_{提}$÷500×N=4.76×$A_{测定}$÷$A_{标准}$×N

注：

$C_{标}$：标准品浓度，1.19mmol/L=1.19μmol/mL　2：样本前处理的稀释倍数

N：样本的稀释倍数　$A_{标准}$：标准孔的 OD 值

$A_{测定}$：测定孔的 OD 值　$V_{提}$：加入提取液体积，1mL

500：细菌/细胞数量，万　W：样本鲜重，g

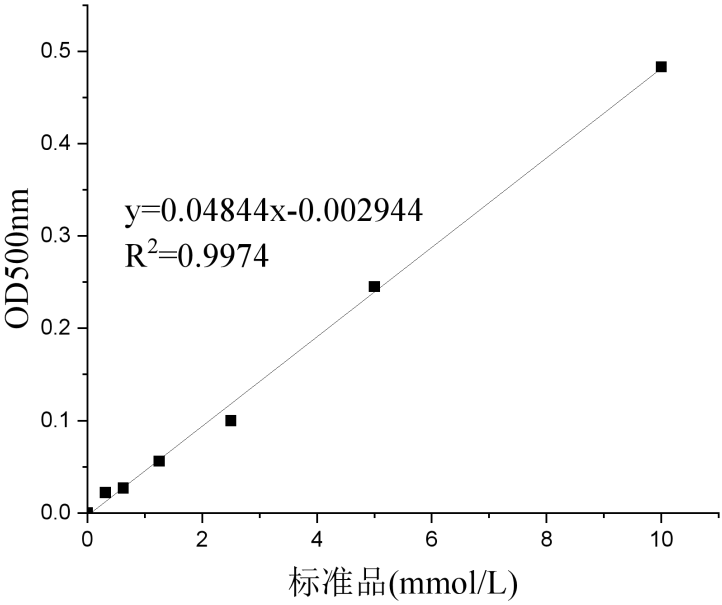
参考样本数据：

以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
大鼠肝脏（10%匀浆）	不稀释	12.588μmol/g
小鼠肾脏（10%匀浆）	不稀释	14.61μmol/g
人血清	不稀释	1.675mmol/L

参考曲线：

y=0.04844x-0.002944,R^2=0.9974,x 是标准品浓度（mmol/L）,y 是△A。



注意：标准曲线仅供参考，用户不用制作。

NOTE:

NOTE:

咨询电话：400-0066-400

传　　真：021-55660885

电子邮箱：shjlsw@163.com

网　　址：www.jonln.com