

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K221-M

产品规格: 96T(92 samples)

检测仪器: 酶标仪(530-570 nm)

**Elabscience®高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)比色法测
试盒(双试剂直接法)**

**High-Density Lipoprotein Cholesterol (HDL-C)
Colorimetric Assay Kit (Double Reagents)**

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

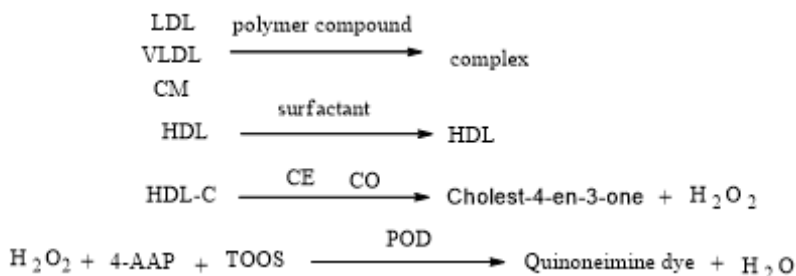
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）样本中高密度脂蛋白胆固醇的含量。

检测原理

CM、VLDL、LDL 在多聚阴离子环境下发生凝聚生成聚合物并被多聚体掩蔽，高密度脂蛋白(HDL)在表面活性剂的作用下形成可溶性复合物，从而使 HDL-C 可直接与酶试剂[含胆固醇酯酶(CE)、胆固醇氧化酶(CO)等]发生反应，产生过氧化氢，过氧化氢在 4-氨基安替吡啉(4-AA)和酚(TOOS)存在时，经过氧化物酶(peroxidase, POD)催化，反应生成苯醌亚胺非那踪的红色醌类化合物，其颜色深浅与 HDL-C 含量成正比，主要反应式如下。



提供试剂和物品

编号	名称	规格(Size) (96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	酶工作液 1 (Enzyme Working Solution 1)	18 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶工作液 2 (Enzyme Working Solution 2)	6 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	标准品(Standard) (浓度见试剂三标签)	粉剂×1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同试剂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。

所需自备物品

仪器：酶标仪（530-570 nm，最佳波长 546 nm）

试剂：双蒸水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）。

试剂准备

- ① 检测前，试剂盒中的试剂三平衡至室温，试剂一、试剂二取实验所需用量于25°C下孵育15 min，剩余试剂2-8°C保存。
- ② 试剂三工作液配制：
取200 μL 的双蒸水加入到试剂三中，混匀，即为试剂三工作液，2-8°C避光可保存2周。

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：可直接测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3例预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，不同样本的稀释如下表（仅供参考）：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	人血浆	不稀释
小鼠血清	不稀释	小鼠血浆	不稀释
大鼠血清	不稀释	大鼠血浆	不稀释
猪血清	不稀释		

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M, pH 7.4）。

实验关键点

- ① 标准品和样本的加入要触板底加液。
- ② 测定 OD 值时，酶标板孔中不能有气泡。

操作步骤

- ① 空白孔：取 5 μL 双蒸水，加入酶标板对应孔中；
标准孔：取 5 μL 试剂三工作液，加入酶标板对应孔中；
样本孔：取 5 μL 待测样本，加入酶标板对应孔中。
- ② 向步骤①中的各孔加入 180 μL 试剂一。
- ③ 混匀，37°C 孵育 5 min。
- ④ 酶标仪 546 nm 波长，测定各孔 OD 值，记录为 A_1 。
- ⑤ 向步骤④中的各孔加入 60 μL 试剂二。
- ⑥ 混匀，37°C 孵育 5 min。
- ⑦ 酶标仪 546 nm 波长，测定各孔 OD 值，记录为 A_2 。

操作表

	空白孔	标准孔	测定孔
双蒸水 (μL)	5	--	--
试剂三工作液 (μL)	--	5	--
待测样本 (μL)	--	--	5
试剂一 (μL)	180	180	180
混匀，37°C 孵育 5 min，酶标仪 546 nm 波长，测定各孔 OD 值，记录为 A_1 。			
试剂二 (μL)	60	60	60
混匀，37°C 孵育 5 min，酶标仪 546 nm 波长，测定各孔 OD 值，记录为 A_2 。			

结果计算

$$\text{HDL-C 含量 (mmol/L)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \times c \times f$$

注解:

$\Delta A_{\text{测定}}$: 测定孔 ΔA 值-空白 ΔA 值, ΔA : $A_2 - A_1$

$\Delta A_{\text{标准}}$: 标准孔 ΔA 值-空白 ΔA 值, ΔA : $A_2 - A_1$

c: 标准品的浓度, 其浓度见试剂三标签

f: 样本加入检测体系之前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.06-3.8 mmol/L	平均批间差	5.0 %
灵敏度	0.06 mmol/L	平均批内差	3.0 %
平均回收率	95%		

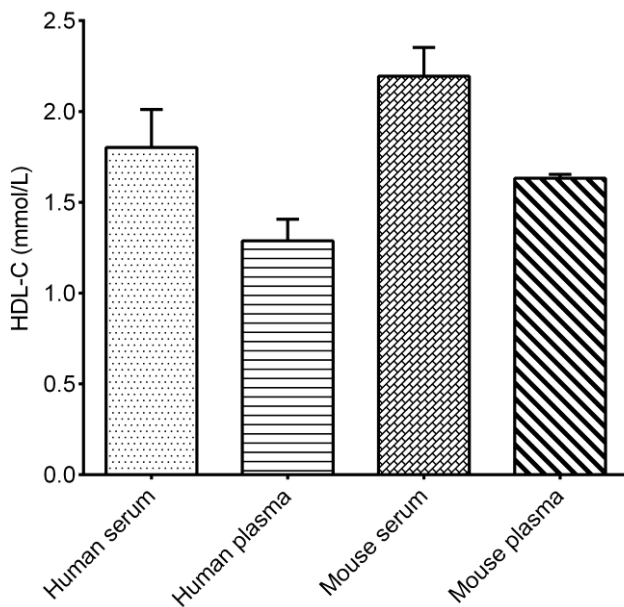
附录2 实例分析

例如检测小鼠血清(数据仅供参考):

取5 μL 的小鼠血清,按操作表操作,结果如下:空白孔平均 A_1 值为0.043,空白孔平均 A_2 值为0.059,标准孔平均 A_1 值0.064,标准孔平均 A_2 值0.172,测定孔平均 A_1 值为0.050,测定孔平均 A_2 值为0.246,计算结果为:

$$\text{HDL-C 含量} = \frac{(0.246-0.050) - (0.059-0.043)}{(0.172-0.064) - (0.059-0.043)} \times 1.1 \text{ mmol/L} = 2.15 \text{ mmol/L}$$

按照操作过程,测定人血清(加样量5 μL)、人血浆(加样量5 μL)、小鼠血清(加样量5 μL)及小鼠血浆(加样量5 μL)中的HDL-C含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
样本测量结果>3.8 mmol/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于于样本中待测物的浓度范围。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。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。