（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-F035

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：荧光酶标仪(激发波长 535 nm，发射波长 587 nm)

Elabscience®高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)荧光法测试盒

High-Density Lipoprotein Chlesterol (HDL-C) Fluorometric Assay Kit

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)、动物组织及细胞样本中高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的含量。

检测原理

高密度脂蛋白胆固醇(High-density lipoprotein cholesterol，HDL-C)主要在肝脏合成，是一种抗动脉粥样硬化的脂蛋白，由载脂蛋白、磷脂、胆固醇以及脂肪酸组成，其作用是转运磷脂以及胆固醇，可将胆固醇从肝外组织转运到肝脏进行代谢，由胆汁排出体外，其在血浆中含量的高低与患心血管病的风险呈负相关。高密度脂蛋白可以从细胞膜上摄取胆固醇，经卵磷脂胆固醇酰基转移酶催化而成胆固醇酯，然后再将携带的胆固醇酯转移到极低密度脂蛋白和低密度脂蛋白上。高密度脂蛋白中胆固醇含量比较固定，约为人体胆固醇总量的 20-30%。

HDL-C 经一系列反应后，生成物可与荧光探针形成络合物，测定样品在激发波长 535 nm，发射波长 587 nm 处的荧光值，即可计算样品中 HDL-C 的含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	反应液 (Reaction Solution)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	2-8ºC 避光保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶溶液 (Enzyme Solution)	5 mL×1 瓶	10 mL×1 瓶	2-8ºC 避光保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	0.2 mL×1 支	0.4 mL×1 支	2-8ºC 避光保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	标准品 (Standard)	0.2 mL×1 支	0.4 mL×1 支	2-8ºC 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	96 孔×1 块		无要求
	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。

所需自备物品

仪器：荧光酶标仪(激发波长 535 nm，发射波长 587 nm)、37°C 恒温箱

试剂：生理盐水(0.9% NaCl)、异丙醇(AR)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25℃。

② 工作液的配制：

按试剂二：试剂三 =25：1的比例配制，2-8°C避光放置，一天内使用有效。

③ 295 μmol/L标准品溶液的配制：

取50 μL试剂四用950 μL双蒸水稀释混匀，未使用的溶液2-8°C可保存一周。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μmol/L)	**0**	**59**	**118**	**147.5**	**177**	**206.5**	**236**	**295**
标准品溶液(μL)	0	40	80	100	120	140	160	200
双蒸水(μL)	200	160	120	100	80	60	40	0

样本准备

① 样本处理

血清(浆)样本：直接检测。

组织样本：按照组织样本质量(g)：异丙醇(AR)体积(mL)=1：9的比例匀浆，4°C，10000 × g离心10 min，收集上清，置于冰上待测。

细胞样本：取1×10^6个细胞，加入200 μL异丙醇(AR)，超声10 min，4°C，10000 × g离心10 min，收集上清，置于冰上待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.15-295 μmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	8-15	小鼠血清	4-10
大鼠血清	2-6	兔血清	4-10
猪血清	4-10	马血清	2-6
10%小鼠肝组织	4-8	10%小鼠肺组织	6-12
1×10^6 个 Molt-4 细胞	不稀释	1×10^6 个 Hela 细胞	不稀释
1×10^6 个 Jurkat 细胞	不稀释	1×10^6 个 HL-60 细胞	不稀释
1×10^6 个 3T3 细胞	不稀释	1×10^6 个 293T 细胞	不稀释

注：血清样本稀释液为生理盐水(0.9% NaCl)；组织和细胞样本稀释液为异丙醇(AR)。

操作步骤

① 试剂一和工作液放至 37ºC 恒温箱提前孵育 15 min。

② 标准孔：取 10 μL 不同浓度的标准品溶液，分别加入相应的酶标孔中。测定孔：取 10 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。

③ 向步骤①中标准孔和测定孔加入 180 μL 试剂一。

④ 振板 3 s，37°C 避光孵育 5 min，向步骤③中各孔加入 60 μL 工作液。

⑤ 振板 3 s，37°C 避光孵育 5 min，使用荧光酶标仪于激发波长 535 nm，发射波长 587 nm 检测各孔荧光值。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度标准品溶液(μL)	10	--
待测样本(μL)	--	10
试剂一(μL)	180	180
振板 3 s，37°C 避光孵育 5 min		
工作液(μL)	60	60
振板 3 s，37°C 避光孵育 5 min，使用荧光酶标仪于激发波长 535 nm，发射波长 587 nm 检测各孔荧光值。		

结果计算

标准品拟合曲线：y = ax + b

血清(浆)样本中高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量计算公式：

$$\text{HDL-C 含量 (μmol/L)} = \frac{\Delta F - b}{a} \times f$$

组织样本中高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量计算公式：

$$\text{HDL-C 含量 (μmol/kg wet weight)} = \frac{\Delta F - b}{a} \div \frac{m}{V} \times f$$

细胞样本中高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量计算公式：

$$\text{HDL-C 含量 (nmol/10^6)} = \frac{\Delta F - b}{a} \div \frac{n}{V} \times f$$

注解：

y：标准品荧光值-空白荧光值(标准品浓度为 0 时的荧光值)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔF：样本的绝对荧光值(测定孔荧光值-空白孔荧光值)

V：组织或细胞样本加入匀浆液的体积，mL

m：样本质量，g

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

n：细胞样本数量/10^6

附录1 关键数据

1. 技术参数

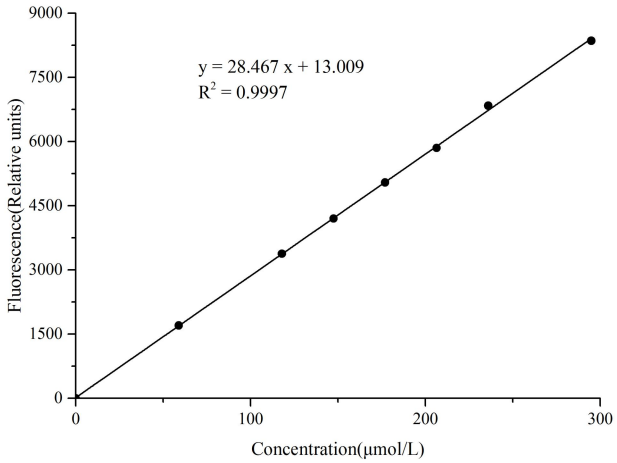
检测范围	0.15-295 μmol/L	批间差	7.1-8.7%
灵敏度	0.15 μmol/L	批内差	2.1-2.4%
加标回收率	95-99%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度标准品加样量10 μL，按照操作步骤进行实验，荧光值如下表所示：

标准品浓度(μmol/L)	0	59	118	147.5	177	206.5	236	295
荧光值	335	2027	3745	4422	5357	6142	7109	8680
	354	2066	3706	4669	5422	6249	7258	8727
平均荧光值	345	2046	3725	4546	5390	6195	7183	8703
绝对荧光值	0	1701	3380	4201	5045	5850	6838	8358

②绘制标曲(如下图)：



附录2 实例分析

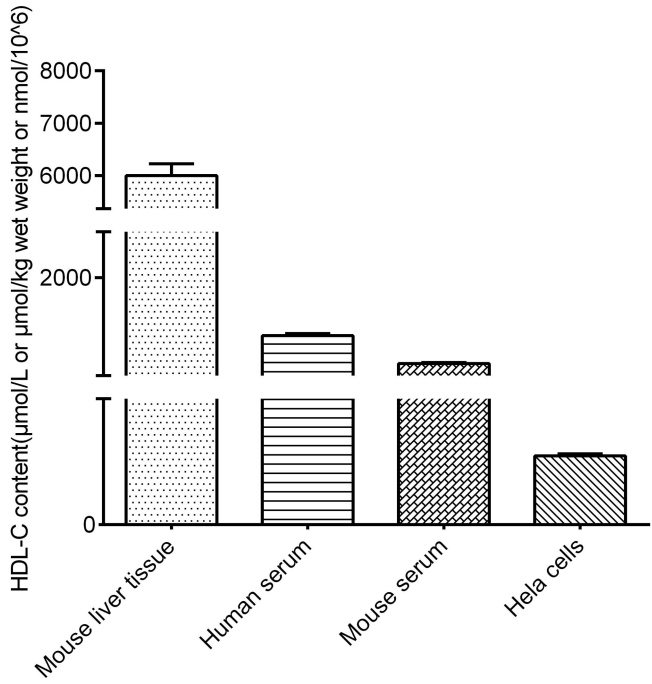
例如检测小鼠肝组织(数据仅供参考)：

取10 μL稀释4倍的10%小鼠肝组织匀浆上清液，按操作表操作，结果如下：标准曲线：y = 28.467 x + 13.009，测定孔平均荧光值为4872，空白孔平均荧光值为345，计算结果为：

HDL-C含量(μmol/kg wet weight) = (4872 - 345 - 13.009) ÷ 28.467 × 0.9 ÷ 0.1 ×4

= 5708.49 μmol/kg wet weight

按说明书操作，测定小鼠肝组织(稀释4倍，加样量10 μL)、人血清(稀释5倍，加样量10 μL)、小鼠血清(稀释5倍，加样量10 μL)、1×10^6个Hela细胞(加样量10 μL)中的HDL-C含量(如下图)：



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同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。