

高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）检测试剂盒

货号：RBC0005

规格：86S

检测范围：78.1-5000 nmol/mL

检测波长：500nm（酶标仪）

检测时间：30min

适用样本：动物血清

使用前请仔细阅读说明书，预实验后再进行批量试验

如有任何问题，可以通过以下方式联系我们：

销售部电话：027-65316809

技术部电话：153-42250750

官方网站：www.reedbio.cn

一、实验原理：

本试剂盒可检测生物体内 LDL-C 含量。其原理是：用沉淀剂分离血清中的低密度脂蛋白胆固醇，利用胆固醇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 Δ^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。

二、试剂盒组分与保存（试剂盒保质期 6 个月）

试剂名称	规格	保存条件
提取液	20mL	4℃
试剂一	15mL	4℃避光
试剂二	1	-20℃避光
试剂三	10mL	4℃
标准品	0.5mL	-20℃避光
标准品稀释液	10mL	4℃
酶标板	96T:8 孔×12 条	常温保存

三、需自备的仪器和用品：

酶标仪(500nm)、离心机、恒温水浴锅/培养箱、可调式移液器、冰和蒸馏水。

四、操作步骤：

1. 预实验注意事项：

1) 实验之前建议选择 2 个预期差异大的样本和标准曲线（S1-S8）做预实验。一共 8 个孔，**正式实验无需重新做标曲**。

2) 若预实验测定吸光值超出标准吸光值线性范围，样本可进一步稀释，避免实验样本和试剂浪费！

2. 样本处理

取血后 3 小时内分离血清，让样品在室温下凝结 30 min，然后 1000 g 离心 15 min，取上层血清立即测定或分装-80℃保存，避免反复冻融。将血清样品与提取液按照 1:1 的比例充分混匀(稀释了 2 倍)，25℃静置 15 min，2,000 g 离心 15

min, 取上清置于冰上待测。

3. 试剂准备:

提取液、试剂三、标准品稀释液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C保存。

试剂一: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C避光保存。

试剂二: 临用前 96T 加入 5mL 试剂三, 48T 加入 2.5mL 试剂三充分混匀待用。用不完的试剂可 4°C保存一周或分装后-20°C保存, 禁止反复冻融。

标准品: 含 5mmol/L 胆固醇标准品; -20°C避光保存。

工作液的配制: 每孔配制 200μL 工作液: 吸取 50μL 溶解后的试剂二, 150μL 试剂一。工作液需现配现用, 根据需要测定的样本数按比例配制。

4. 标准溶液的配制:

标准曲线设置: 按下表所示, 用**标准品稀释液**将 5mmol/L 即 5000nmol/L 胆固醇标准品稀释为 5000、2500、1250、625、312.5、156.2、78.1、0 nmol/L 的标准溶液。

编号	标准液体积(μL)	稀释液体积(μL)	稀释后浓度 (nmol/mL)
S1	100μL S0	0	5000
S2	50μL S1	50	2500
S3	50μL S2	50	1250
S4	50μL S3	50	625
S5	50μL S4	50	312.5
S6	50μL S5	50	156.27
S7	50μL S6	50	78.125
S8	50μL S7	50	0

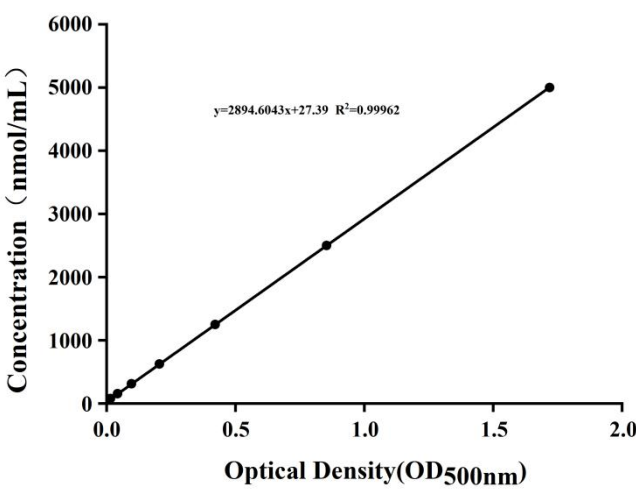
5. 实验步骤及结果计算：

- 1) 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 **500nm**。
- 2) 操作表：

试剂名称 (μL)	测定孔(μL)	标准孔(μL)
样本	20	-
标准曲线(S1-S8)	-	20
工作液	200	200

充分混匀，**37°C**下放置 **30min** 后，测定 500nm 吸光值 A，分别记为 A_{测定}、A_{标准}，S8 测值记为 A_空。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空}$ 。

以各个标准溶液的浓度为 Y 轴，其对应的 $\Delta A_{标准}$ 为 X 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{测定}$ 带入方程得到 Y (nmol/mL)。



不同检测条件下，实际读数因标准品的配制、检测仪器等不同而存在差异，图中数据仅供参考！

结果计算：低密度脂蛋白(LDL-C)含量 (nmol/mL) = 2Y

其中，2：样本制备过程中的稀释倍数 2

技术资源

微信扫描左下二维码，获得更详细的实验指南和常规问题分析如有任何技术问题，请与我司联系(建议及时对显色结果拍照，保留实验数据以及未使用的试剂)。

