

CheKine™ 高密度脂蛋白 (HDL-C) 含量检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB2250

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

≠	检测范围: 0.078-5 mmol/L (标准品的检测范围, 对应样本实际含量 0.156-10 mmol/L)		灵敏度: 0.039 mmol/L (标准品的灵敏度, 对应样本实际含量 0.078 mmol/L)
	适用样本: 动物血清		
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月		

01 背景与原理

高密度脂蛋白 (High-Density Lipoprotein Cholesterol, HDL-C) 为血清蛋白之一, 主要由肝脏合成, 运载周围组织中的胆固醇, 再转化为胆汁酸或直接通过胆汁从肠道排出, 是一种抗动脉粥样硬化的血浆脂蛋白, 是冠心病的保护因子, 俗称“血管清道夫”, 对冠心病的临床诊断是一个重要的参考指标。

本试剂盒检测原理是用沉淀剂分离血清中的高密度脂蛋白胆固醇, 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 500 nm 有特征吸收峰。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	12 mL	24 mL	4℃
Chromogen	11 mL	22 mL	4℃, 避光保存
Enzyme Mix	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃, 避光保存
Assay Buffer	5 mL	10 mL	4℃
Standard	0.25 mL	0.5 mL	-20℃, 避光保存
Standard Diluent	5 mL	10 mL	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 500 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
其他	匀浆器（组织样本）、低温离心机、恒温箱、制冰机、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

注意：各组分开盖前，请先低速离心。

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Chromogen	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存；Chromogen 有毒，建议在通风橱进行实验
Assay Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Standard Diluent	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Enzyme Mix	临用前配制；96 T 加入 5 mL Assay Buffer, 48 T 加入 2.5 mL Assay Buffer 充分混匀待用	未用完的试剂可 4℃保存一周或分装后 -20℃避光保存一个月，禁止反复冻融
Standard	即用型；使用前平衡至室温；5 mmol/L 胆固醇标准品	-20℃避光保存

05-1-2 标准品配制

按下表所示，用 Standard Diluent 将 5 mmol/L 胆固醇标准品稀释为 5、2.5、1.25、0.625、0.313、0.156、0.078、0 mmol/L 的标准溶液。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	标准品体积	Standard Diluent 体积 (μL)	标准品浓度 (mmol/L)
1	100 μL 5 mmol/L	0	5
2	50 μL of 5 mmol/L	50	2.5
3	50 μL of 2.5 mmol/L	50	1.25
4	50 μL of 1.25 mmol/L	50	0.625
5	50 μL of 0.625 mmol/L	50	0.313
6	50 μL of 0.313 mmol/L	50	0.156
7	50 μL of 0.156 mmol/L	50	0.078
空白	0	100	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜血清样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- 血清：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 Extraction Buffer 按照 1:1 的比例充分混匀，25℃静置 15 min，2000 g 离心 15 min，取上清置于冰上待测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 500 nm。恒温箱预热到 37℃。
2. 工作液的配制：每孔配制 200 μL 工作液：吸取 50 μL 溶解后的 Working Enzyme Mix，150 μL Chromogen。工作液需现配现用，根据需要测定的样本数按比例配制。
3. 检测体系配制：在 96 孔板中按照如下方式操作

试剂	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)	空白孔
Standard	20	0	0
Standard Diluent	0	0	20
样本	0	20	0
工作液	200	200	200

4. 吸光度检测：混匀，37℃静置 30 min，测定 500 nm 处吸光值，分别记为 A_{标准}、A_{测定}、A_{空白}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$

2. 标准曲线绘制

以标准液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程得到 y 值 (mmol/L)。

3. 样本高密度脂蛋白 (HDL-C) 计算

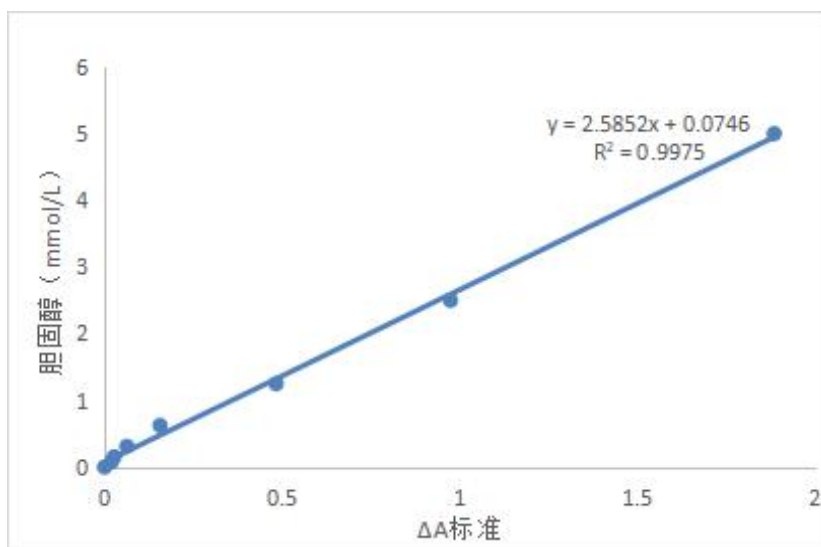
● 按样本体积计算

HDL-C 含量 (mmol/L) = $2 \times y$

其中，2：样本制备过程中的稀释倍数 = $(1+1)/1=2$ 。

07 结果展示

典型标准曲线： $y = 2.5852x + 0.0746$, $R^2 = 0.9975$



示例-1: 取山羊血清，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.09 - 0.052 = 0.038$ ，代入标准曲线，计算 $y = 0.173$ 。按样本体积计算得：HDL-C 含量 (mmol/L) = $2 \times y = 0.346$ mmol/L。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A_{\text{测}}$ 低于 0.02，可适当增加样本量。如果样本的 $\Delta A_{\text{测}}$ 高于 5 mmol/L 标准品的 $\Delta A_{\text{标}}$ 值，将样本用去离子水进行稀释后，再进行实验，计算结果乘以稀释倍数。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB2210	CheKine™ 游离胆固醇（FC）检测试剂盒（微量法）
KTB2220	CheKine™ 总胆固醇（TC）检测试剂盒（微量法）
KTB2230	CheKine™ 游离脂肪酸（FFA）含量检测试剂盒（微量法）
KTB2240	CheKine™ 脂肪酸合成酶（FAS）活性检测试剂盒（微量法）
KTB2260	CheKine™ 低密度脂蛋白（LDL-C）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 高密度脂蛋白（HDL-C）含量检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB2250)

样本处理

血清

取血后3小时内分离血清，让样品在室温下凝结30 min



1000 g，离心15 min，取上清（若不及时使用，请分装后置于-80℃保存）



将血清样品与Extraction Buffer按照1:1的比例充分混匀，25℃静置15 min



2000 g，室温离心15 min，取上清

体系配置

工作液的配制：

每孔配制200 μL工作液：吸取50 μL溶解后的Working Enzyme Mix，150 μL Chromogen。工作液需现配现用，根据需要测定的样本数按比例配制。

标准品配制



测定孔



空白孔



标准孔

样本
工作液

20 μL
200 μL

Standard Diluent
工作液

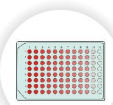
20 μL
200 μL

Standard
工作液

20 μL
200 μL

混匀，37℃静置30 min

数据检测



测定500 nm吸光度
结果计算