

总胆固醇 (TC) 含量检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0355	总胆固醇 (TC) 含量检测试剂盒 (微量法)	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 100mL × 1 瓶 (自备: 异丙醇)	
试剂二	液体 20mL × 1 瓶	4℃
试剂三	粉剂 × 1 瓶	4℃
试剂四	液体 40μL × 1 瓶	4℃
标准品	液体 1mL×1 支, 0.5μmol/mL。	4℃

一、产品说明

总胆固醇 (Total Cholesterol, TC) 包括游离胆固醇和胆固醇酯。TC 是指组织中所有脂蛋白所含胆固醇之总和。

利用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 ; 最后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, 其颜色深浅与 TC 含量成正比。

二、自备材料

酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰和蒸馏水、异丙醇。

三、样品准备

- 1、组织: 按照组织质量 (g): 试剂一体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 试剂一), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞/细菌: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): 试剂一体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一), 超声波破碎 1min (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 1s, 停 1s); 即 TC 待测液。
- 3、血浆/血清: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 500nm, 蒸馏水调零。
- 2、TC 工作液的配制: 临用前, 吸取约 0.8mL 试剂二分别加入试剂三和试剂四瓶中, 充分溶解后再全部转移回试剂二瓶中, 充分混匀, TC 工作液置于 37℃ 水浴 10min。用不完的工作液 4℃ 保存一周。
- 3、标准管: 依次在 96 孔板中加入 20μL TC 标准液和 180μL TC 工作液, 混匀, 37℃ 静置 3h 后于 500nm 测定 A 标准管。
- 4、测定管: 依次在 96 孔板中加入 20μL TC 待测液和 180μL TC 工作液, 混匀, 37℃ 静

置 3h 后于 500nm 测定 A 测定管。

5、空白管: 依次在 96 孔板中加入 20 μ L 试剂一和 180 μ LTC 工作液, 混匀, 37 $^{\circ}$ C 静置 3h 后于 500nm 测定 A 空白管。

五、含量的计算

1、按照组织蛋白浓度计算

$$TC (\mu\text{mol} / \text{mg prot}) = C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div Cpr \\ = 0.5 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div Cpr。$$

2、按照样本鲜重计算

$$TC (\mu\text{mol} / \text{g 鲜重}) = C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W \\ = 0.5 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W。$$

3、按照细菌/细胞密度计算:

$$TC (\mu\text{mol} / 10^4 \text{ ceLL}) = C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div \text{细菌或细胞} \\ (10^4 \text{ ceLL} / \text{L}) = 0.5 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div \text{细菌或细胞} (10^4 \text{ ceLL} / \text{L})$$

4、按照血清/血浆体积计算

$$TC (\mu\text{mol} / \text{dL}) = C \text{ 标准液} \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times 100 \\ = 50 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})。$$

C 标准液: 0.5 μ mol/mL; 100 mL: 1dL=100 mL; 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g/mL。

六、注意事项

- 1、标准管和空白管只需测定一次。
- 2、最低检出限为 1nmol/mL。