

总胆固醇 (TC) 含量检测试剂盒 (分光光度计法)
(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
YFX0354	总胆固醇 (TC) 含量检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 50mL × 1 瓶 (自备: 异丙醇)	
试剂二	液体 50mL × 1 瓶	4℃
试剂三	粉剂 × 1 瓶	4℃
试剂四	液体 100μL × 1 瓶	4℃
标准品	液体 1mL × 1 瓶: 0.5μmol/mL TC 标准品。	4℃, 避光

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

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液枪、1mL 玻璃比色皿、异丙醇和蒸馏水。

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, 取上清待测。
- 2、细胞或细菌: 先收集 400-500 万细胞或细菌到离心管内, 弃上清, 加 1mL 试剂一, 超声波破碎 1min (强度 20%, 超声 2s, 停 1s), 即 TC 待测液。
- 3、血清/血浆: 直接测定。

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、分光光度计预热 30 min, 调节波长到 500 nm, 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 1mL 玻璃比色皿中加入 100μL FC 标准液和 900μL 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 1mL 玻璃比色皿中加入 100μL FC 待测液和 900μL TC 工作液, 混匀,

37°C 静置 3h 后于 500nm 测定 A 测定管。

5、空白管: 依次在 1mL 玻璃比色皿中加入 100 μ L 试剂一和 900 μ L TC 工作液, 混匀, 37°C 静置 3h 后于 500nm 测定 A 测定管。

五、TC 含量的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

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

2、按照样本鲜重计算:

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

3、按照细胞数量计算:

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

4、按照液体体积计算:

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

C 标准液: 0.5 μ mol/mL; 100 mL: 1dL=100 mL; Cpr: 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。