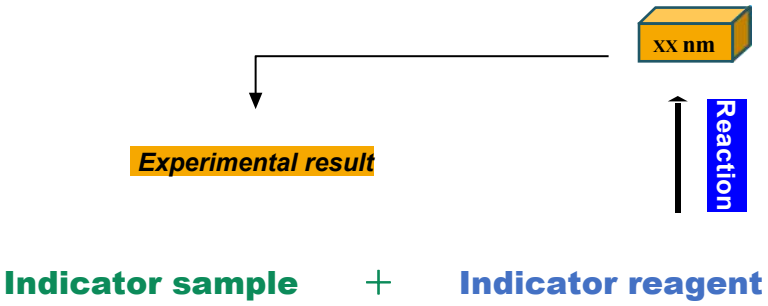
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0412　　规格：100管/96样

总胆固醇（TC）含量检测试剂盒

微量法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

产品简介：

总胆固醇（Total Cholesterol，TC）是指所有脂蛋白所含胆固醇的总和，包括游离胆固醇和胆固醇酯。

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△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，其在 500nm 有特征吸收峰，其颜色深浅与TC 含量成正比。

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计/酶标仪、天平、低温台式离心机、微量玻璃比色皿/96 孔板、可调式移液枪、EP 管、蒸馏水、异丙醇。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	异丙醇 100mL×1瓶，自备	4℃保存	-
工作液	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	-
标准品	粉剂×1支	4℃保存	10mg 胆固醇，临用前加入517μL提取液，振荡溶解，即为50μmol/mL 的胆固醇标准溶液。

操作步骤：

一、样本处理：

1　组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）进行冰浴匀浆。10000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

2　细菌、真菌：按照细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 2 秒，间隔 3 秒，总时间 3min）；然后 10000g，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。

3　血清（浆）样品：直接测定。

二、测定步骤：

1、 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 500nm，蒸馏水调零。

2、 将 50μmol/mL 标准液用提取液稀释为 2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078μmol/mL 的标准溶液备用。

3、 操作表：(在离心管或 96 孔板中依次加入下列试剂)

	测定管	标准管	空白管
样品（μL）	20	–	–
标准溶液（μL）	–	20	–
提取液（μL）	–	–	20
工作液（μL）	180	180	180
充分混匀，37℃静置 15min，反应完成后测定 500nm 处吸光值 A，分别记为 A 测定管、A 标准管和 A 空白管，△A=A 测定管-A 空白管，△A 标准=A 标准管-A 空白管， 空白管只需测一次。			

总胆固醇含量计算

一、标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的△A 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 y=kx+b，将△A 带入方程得到 x（μmol/mL）

二、总胆固醇含量的计算：

1. 血清（浆）中 FC 含量计算 TC 含量（μmol/dL）=x×100
2. 组织中 FC 含量计算：

1、按样本蛋白浓度计算

TC 含量（μmol/mg prot）=x×V 提取÷（Cpr×V 提取）=x÷Cpr。

2、按样本鲜重计算

TC 含量（μmol/g 鲜重）=x×V 提取÷W= x÷W

3. 细胞、细菌中 TC 含量计算：

TC 含量(μmol/10^4 cell)=x×V 提取÷500=0.002x。

100：1dL=100mL；V 提取：加入样本的提取液体积，1mL；W：样本质量，g；500:500 万个细胞数量。

注意事项

当△A 大于 1.5 时，建议将样本用提取液稀释后再进行测定。