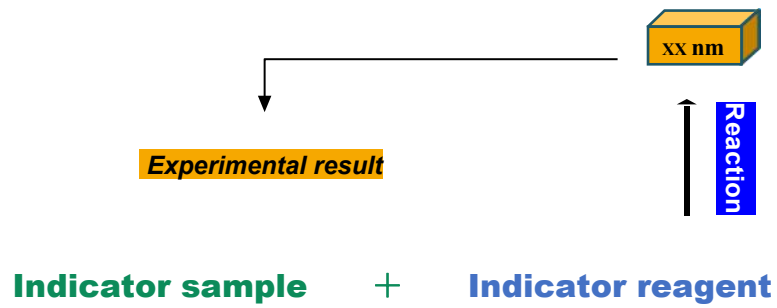


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

总胆固醇（TC）含量检测试剂盒说明书 可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

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 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，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、天平、低温台式离心机、玻璃比色皿、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 50mL×1 瓶	4℃保存	自备
工作液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	-
标准品	粉剂×1支, 10mg 胆固醇	4℃保存	临用前加入517 μ L提取液，振荡溶解，即为50 μ mol/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。

血清（浆）样品：直接测定。

二、测定步骤：

1、分光光度计预热30min以上，调节波长至500nm，蒸馏水调零。

2、将50 μ mol/mL标准液用提取液稀释为2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078 μ mol/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)	100	-	-
标准溶液 (μL)	-	100	-
提取液 (μL)	-	-	100
工作液 (μL)	900	900	900

充分混匀，37°C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， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ ，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 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 带入方程得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)

二、总胆固醇含量的计算：

1. 血清(浆)中 FC 含量计算：

$$\text{TC 含量} (\mu\text{mol/dL}) = x \times 100。$$

2. 组织中 FC 含量计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{TC 含量} (\mu\text{mol/mg prot}) = x \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) = x \div C_{\text{pr}}。$$

(2) 按样本鲜重计算

$$\text{TC 含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) = x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W$$

(3) 细胞、细菌中 TC 含量计算：

$$\text{TC 含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = x \times V_{\text{提取}} \div 500 = 0.002x。$$

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 ΔA 大于 1.5 时，建议将样本用提取液稀释后再进行测定。