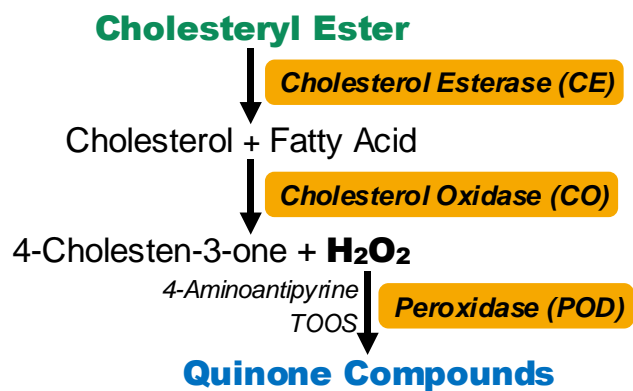




总胆固醇 (TC) 含量检测试剂盒  
Total Cholesterol (TC) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 总胆固醇（TC）含量检测试剂盒

### Total Cholesterol (TC) Content Assay Kit

#### 一、产品描述

胆固醇（Cholesterol）又称胆甾醇，是广泛存在于动物体内的一种环戊烷多氢菲衍生物，可作为合成肾上腺皮质激素、性激素、胆汁酸及维生素 D 等生理活性物质的重要原料，也是构成细胞膜的主要成分，总胆固醇（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。

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），胆固醇氧化酶催化游离胆固醇氧化生成 $\Delta^4$ -胆甾烯酮和  $H_2O_2$ ，过氧化物酶催化  $H_2O_2$  氧化 4-氨基安替比林和苯胺类似物生成紫色化合物，产物在 550 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测总胆固醇的含量。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶 (自备试剂)	4°C避光保存	异丙醇 ( $C_3H_8O$ , MW=60.06, CAS:67-63-0)
试剂一	液体 70 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	液体 700 $\mu$ L×1 支	4°C避光保存	-
试剂三	液体 700 $\mu$ L×1 支	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 胆固醇标准品)	4°C保存	使用前加入 517 $\mu$ L 提取液充分溶解 (即为 50 $\mu$ mol/mL 胆固醇标准液)
标准稀释液的制备（现配现用）：使用前将 50 $\mu$ mol/mL 胆固醇标准液使用提取液稀释至 0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05 $\mu$ mol/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 ( $\mu$ mol/mL)	50	10	10	10	0.4	0.2	0.1
标准液体积 ( $\mu$ L)	100	80	60	40	500	500	500
提取液体积 ( $\mu$ L)	400	920	940	960	500	500	500
稀释后浓度 ( $\mu$ mol/mL)	10	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1	0.05

注：有机试剂移液过程易产生体积误差，建议润洗枪头后进行移液，并及时更换枪头。

### 三、产品使用说明

**测定过程中所需要的仪器和试剂:** 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、异丙醇和蒸馏水。

#### 1. 待测样本的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

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 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 10000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 ( $10^4$  个): 提取液体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 300 W, 超声 2 s, 间隔 3 s, 总时间 3 min), 4°C 10000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或适当稀释后再进行检测。

注: 分离血清或血浆应为非溶血样本, 提取后待测样本不能用于蛋白浓度测定, 需另取样本测定。

#### 2. 测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上, 调节波长至 550 nm, 蒸馏水调零。

②TC 工作液的制备 (现用现配): 使用前根据使用量按试剂一: 试剂二: 试剂三=1 mL: 10  $\mu$ L: 10  $\mu$ L 的体积比配制, 充分混匀即为 TC 工作液。

③在离心管中依次加入下列试剂:

试剂	测定管 ( $\mu$ L)	标准管 ( $\mu$ L)	空白管 ( $\mu$ L)
待测样本	100	-	-
标准稀释液	-	100	-
提取液	-	-	100
TC 工作液	900	900	900
充分混匀, 37°C 显色 15 min			

**吸光值测定:** 将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中, 测定 550 nm 处吸光值, 记为 A 测定、A 标准和 A 空白; 计算  $\Delta A$  测定=A 测定-A 空白,  $\Delta A$  标准=A 标准-A 空白。注: 各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

**标准曲线的建立:** 以 0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05  $\mu$ mol/mL 标准稀释液浓度为横坐标 (x), 以对应的  $\Delta A$  标准为纵坐标 (y), 绘制标准曲线, 得到方程  $y=kx+b$ , 将  $\Delta A$  测定代入方程中得到 x ( $\mu$ mol/mL)。

### 3.总胆固醇（TC）含量计算

#### ①按组织蛋白浓度计算

$$\text{总胆固醇含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times D}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}} = \frac{x \times D}{C_{\text{pr}}}$$

#### ②按组织样本质量计算

$$\text{总胆固醇含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times D}{W} = \frac{x \times D}{W}$$

#### ③按细菌或细胞数量计算

$$\text{总胆固醇含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times D}{\text{细菌或细胞数量}} = \frac{x \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④按液体样本体积计算

$$\text{总胆固醇含量 } (\mu\text{mol/dL}) = 100 \times x \times D$$

**注释：** V 样总：待测样本总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可；100：单位换算系数，1 dL=100 mL；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为 1。

### 四、注意事项

①若A测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用**提取液**适当稀释后再进行测定，低于最低值建议制备更高浓度样本或适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**boxbio**

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

