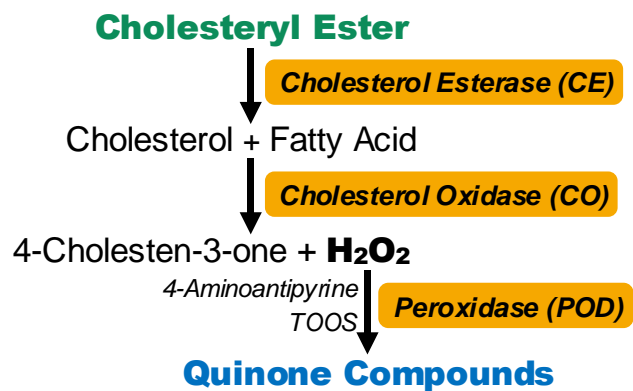




总胆固醇 (TC) 含量检测试剂盒
Total Cholesterol (TC) Content Assay Kit



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 Δ^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 120 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 30 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	液体 300 μ L×1 支	4°C避光保存	-
试剂三	液体 300 μ 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 μ L 提取液充分溶解 (即为 50 μ 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 μ mol/mL 胆固醇标准液使用提取液稀释至 1.2、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 μ mol/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μ mol/mL)	50	10	10	0.8	0.4	0.2	0.1
标准液体积 (μ L)	100	120	80	500	500	500	500
提取液体积 (μ L)	400	880	920	500	500	500	500
稀释后浓度 (μ mol/mL)	10	1.2	0.8	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：酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、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酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 550 nm。

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 μ L：10 μ L 的体积比配制，充分混匀即为 TC 工作液。

③在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μ L)	标准组 (μ L)	空白组 (μ L)
待测样本	20	-	-
标准稀释液	-	20	-
提取液	-	-	20
TC 工作液	180	180	180
充分混匀，37°C 显色 15 min			

吸光值测定：测定 550 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：各浓度标准组和空白组只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 1.2、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 μ mol/mL 标准稀释液浓度为横坐标（x），以对应的 ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定代入方程中得到 x（ μ 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.

