

总胆固醇（TC）含量检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1469

产品规格：50管/48样

产品说明：

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H₂O₂；最后利用过氧化物酶催化H₂O₂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。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶（自备）	4℃
试剂一	液体60mL×1瓶	4℃
试剂二	液体400μL×1支	4℃
试剂三	液体60μL×1支	4℃
标准品	粉剂×1支	4℃

溶液的配制：

1. 提取液：自备异丙醇，4℃保存。
2. 标准品：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。
3. 试剂三：液体置于试剂瓶内EP管中。
4. 工作液的配制：将试剂一：试剂二：试剂三按3mL：20μL：3μL的比例配制工作液，现用现配。

技术指标：

最低检出限：0.056μmol/mL

线性范围：0.078-2μmol/mL

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、天平、低温台式离心机、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、EP管、蒸馏水、异丙醇。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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、细胞：按照细胞数量（10⁴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）样本：直接测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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、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1.5ml离心管中依次加入下列试剂）

	测定管	标准管	空白管
样本（ μ L）	100	-	-
标准溶液（ μ L）	-	100	-
提取液（ μ L）	-	-	100
工作液（ μ L）	900	900	900
充分混匀，37 $^{\circ}$ C静置15min，反应完成后于1mL玻璃比色皿，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， $\Delta A=A$ 测定管-A空白管， ΔA 标准=A标准管-A空白管。（空白管只需测1-2次）			

三、总胆固醇含量计算

1. 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（ μ mol/mL）。

2. 总胆固醇含量的计算：

- （1）按血清（浆）体积计算：TC含量（ μ mol/dL）= $x \times 100$
- （2）按样本蛋白浓度计算：TC含量（ μ mol/mg prot）= $x \times V$ 提取 \div （Cpr $\times V$ 提取）= $x \div Cpr$
- （3）按样本质量计算：TC含量（ μ mol/g质量）= $x \times V$ 提取 $\div W = x \div W$
- （4）按细胞、细菌数量计算：TC含量（ μ mol/ 10^4 cell）= $x \times V$ 提取 $\div 500 = 0.002x$

100：单位换算系数，1dL=100mL；V提取：加入样本的提取液体积，1mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500万。

注意事项：

1. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。
2. 用提取液提取后的上清不能用于蛋白浓度测定。如需测定蛋白浓度，需另取组织。

实验实例：

1. 取鸡血浆样本，直接按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A=A$ 测定管-A空白管=0.083-0.012=0.071，根据标准曲线 $y=0.6686x-0.035$ ，计算 $x=0.1585$ ，按血清（浆）体积计算得：
TC含量（ μ mol/dL）= $x \times 100 = 0.1585 \times 100 = 15.85 \mu$ mol/dL。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com