

总胆固醇(TCH酶法)检测试剂盒(酶标法)

产品货号: BA3279

产品规格: 30ml

产品介绍:

总胆固醇是指血液中所有脂蛋白所含胆固醇之总和。人群总胆固醇水平主要取决于遗传因素和生活方式。总胆固醇包括游离胆固醇和胆固醇酯,胆固醇是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,其血清浓度可作为脂代谢的指标。

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ESPAS,生成蓝紫色醌亚胺化合物,其在546nm有特征吸收峰,其颜色深浅与TC含量成正比。

试剂组成:

试剂名称	30ml	保存要求
试剂一	1瓶	2-8°C
标准品	1瓶	2-8°C

产品使用说明:

1. 总胆固醇提取

- (1) 血清(浆): 直接测定,如超过线性范围用生理盐水稀释后测定。
- (2) 培养液样本: 吸取培养液,1000转/分,离心10分钟,取上清测定,一般建议细胞密度在100万个/mL以上。
- (3) 组织样本: 准确称取组织重量,按重量(g):体积(mL)=1:9的比例,加入9倍体积的匀浆介质,冰水浴条件下机械匀浆,2500转/分,离心10分钟,取上清液待测。

[注]: 如组织样本均为非高脂样本,匀浆介质统一用磷酸盐缓冲液(0.1mol/L pH7.4)或生理盐水进行匀浆提取;如组织样本均为高脂样本或部分为高脂样本,匀浆介质可统一用无水乙醇进行匀浆提取。

(4) 细胞样本:

- A. 细胞收集: 将制备好的细胞悬液取出,1000转/分,离心10分钟,弃上清液,留细胞沉淀;用等渗缓冲液(推荐0.1mol/L、pH7~7.4磷酸盐缓冲液)清洗1~2次,同样1000转/分,离心10分钟,弃上清液,留细胞沉淀;
- B. 细胞破碎: 加入0.2~0.3mL的匀浆介质(推荐0.1mol/L、pH7~7.4磷酸盐缓冲液或生理盐水)进行匀浆,冰水浴条件下超声破碎(功率300W,3~5秒/次,间隔30秒,重复3~5次)或手动匀浆,制备好的匀浆液不离心直接测定。也可采用裂解液裂解(推荐TritonX-100,1~2%,裂解30~40分钟),裂解好的液体不离心直接测定。

[注]: 建议收集的细胞密度在100万个/mL以上。破碎好的液体可显微镜观察细胞是否破碎完全。

2. 测定步骤

- (1) 酶标仪预热30min以上,调节波长至546nm,蒸馏水调零。
- (2) 在96孔板中按下表加样

成分(μL)	标准管	测定管	空白管
TC标准品	3		
待测液		3	
蒸馏水			3
试剂一	300	300	300
充分混匀,37°C水浴5min后于546nm处测定各管吸光度值。			



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

3. 总胆固醇含量计算:

(1) 血清等液体样本计算公式: 胆固醇(mmol/L)=C 标准×(A 测定-A 空白)÷(A 标准-A 空白)

(2) 组织、细胞计算公式:

A. 用 PBS 或生理盐水作匀浆介质提取样本计算方法(此方法需要另外测定匀浆液蛋白浓度):

$$\text{胆固醇(mmol/gprot)} = \text{C 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{Cpr}$$

B. 用无水乙醇作匀浆介质提取样本计算方法(此方法不需要另外测定匀浆液蛋白浓度):

$$\text{胆固醇(mmol/g 组织)} = \text{C 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (\text{W} \div \text{V 乙醇})$$

C标准: 5.17mmol/L

Cpr: 匀浆液蛋白浓度, gprot/L

W: 样本质量, g

V乙醇: 加入乙醇的总体积, L

注意事项:

1. 本产品仅用于科研, 不得用于临床诊断, 切勿服用。开封后请尽快使用, 以免空气、采样污染引起试剂变质。
2. 测试前需进行预实验后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担。试剂若不慎溅到人体表面, 必须清水冲洗。
3. 样本浓度超过线性范围时, 请用生理盐水将标本稀释, 测定结果乘以稀释倍数。

保存条件:

2-8°C保存, 保质期180天。



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>