

# 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 $H_2O_2$ ；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。

**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°C
试剂一	液体60mL×1瓶	4°C
试剂二	液体400 $\mu$ L×1支	4°C
试剂三	液体60 $\mu$ L×1支	4°C
标准品	粉剂×1支	4°C

## 溶液的配制：

1. 提取液：自备异丙醇，4°C保存。
2. 标准品：10mg胆固醇，临用前加入517 $\mu$ L提取液，振荡溶解，即为50 $\mu$ mol/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：20 $\mu$ L：3 $\mu$ L的比例配制工作液，现用现配。

## 技术指标：

最低检出限：0.056 $\mu$ mol/mL

线性范围：0.078-2 $\mu$ mol/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°C离心10min，取上清置冰上待测。
2. 细菌、细胞：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°C离心10min，取上清置于冰上待测。
3. 血清（浆）样本：直接测定。

### 二、测定步骤



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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 $\mu\text{mol/mL}$ 标准液用提取液稀释为2、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078 $\mu\text{mol/mL}$ 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（ $\mu\text{L}$ ）	100	-	-
标准溶液（ $\mu\text{L}$ ）	-	100	-
提取液（ $\mu\text{L}$ ）	-	-	100
工作液（ $\mu\text{L}$ ）	900	900	900

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

#### 2. 总胆固醇含量的计算：

(1) 按血清（浆）体积计算：TC含量（ $\mu\text{mol/dL}$ ）= $x \times 100$

(2) 按样本蛋白浓度计算：TC含量（ $\mu\text{mol/mg prot}$ ）= $x \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) = x \div C_{\text{pr}}$

(3) 按样本质量计算：TC含量（ $\mu\text{mol/g质量}$ ）= $x \times V_{\text{提取}} \div W = x \div W$

(4) 按细胞、细菌数量计算：TC含量( $\mu\text{mol}/10^4\text{cell}$ )= $x \times V_{\text{提取}} \div 500 = 0.002x$

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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}} = 0.083 - 0.012 = 0.071$ ，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（ $\mu\text{mol/dL}$ ）= $x \times 100 = 0.1585 \times 100 = 15.85 \mu\text{mol/dL}$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com